Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®

Guide de démarrage rapide du séquençage

Applied Biosystems | HITACHI

© Copyright 2001, Applied Biosystems

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

FOR LIMITED LICENSE INFORMATION, PLEASE SEE THE ABI PRISM® 3100 GENETIC ANALYZER USER'S MANUAL.

The ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer includes patented technology licensed from Hitachi, Ltd. as part of a strategic partnership between Applied Biosystems and Hitachi, Ltd., as well as patented technology of Applied Biosystems.

ABI PRISM and its design, Applied Biosystems, BioLIMS, GeneScan, Genotyper, and MicroAmp are registered trademarks of Applera Corporation or its subsidiaries in the U.S. and certain other countries.

ABI, BigDye, Factura, Hi-Di, POP, POP-4, and POP-6 are trademarks of Applera Corporation or its subsidiaries in the U.S. and certain other countries.

AmpliTaq is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc.

Microsoft, Windows, and Windows NT are registered trademarks of the Microsoft Corporation in the United States and other countries.

Oracle is a registered trademark of the Oracle Corporation.

pGEM is a registered trademark of Promega Corporation.

All other trademarks are the sole property of their respective owners.

Applied Biosystems vast distribution and service network, composed of highly trained support and applications personnel, reaches into 150 countries on six continents. For international office locations, please call our local office or refer to our web site at www.appliedbiosystems.com.

Applera Corporation is committed to providing the world's leading technology and information for life scientists. Applera Corporation consists of the Applied Biosystems and Celera Genomics businesses.

Sommaire

1 Introduction

Présentation 1-1
A propos de ce manuel 1-2
Pour plus d’informations 1-2
Support technique 1-3
Sécurité 1-8

2 Exécution d’une analyse de séquençage

Présentation 2-1
Avant de commencer 2-2
Démarrage du logiciel 3100 Data Collection 2-3
Réglage des préférences sur le logiciel 2-5
Utilisation des ensembles plaques 2-7
Vérification et remplissage des liquides 2-9
Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons 2-12
Création d’un enregistrement de plaque 2-13
Liaison d’une plaque 2-19
Démarrage et surveillance de la série 2-23
Arrêt d’une série et récupération des données 2-24
Affichage, modification ou création d’un module d'électrophorèse 2-25
Affichage et modification d’un module d’analyse 2-27

3 Affichage et analyse des données

Présentation 3-1
Affichage des données brutes d’une série terminée dans le logiciel de collecte des données . . 3-2
Affichage des données analysées 3-5
Analyse ou réanalyse des données 3-11

4 Calibrations spatiale et spectrale

Présentation 4-1
Exécution d’une calibration spatiale 4-2
Exécution d’une calibration spectrale 4-6

5 Entretien de l’instrument

Présentation 5-1
Listes des travaux de maintenance 5-2
Elimination des bulles d’air du bloc polymère supérieur 5-4
Vérification de l’espace disque disponible 5-5
Nettoyage et inspection des seringues 5-7
Retrait des blocs polymère 5-8
Nettoyage des blocs polymère 5-9
Montage du polymère frais sur l’instrument 5-10
Avant d’installer une barrette capillaire précédemment utilisée 5-11
Installation et retrait de la barrette capillaire 5-12
Stockage d’une barrette capillaire 5-13
Arrêt de l’instrument 5-14

Index

Introduction 1

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
A propos de ce manuel	1-2
Pour plus d'informations	1-2
Support technique	1-3
Sécurité	1-8

A propos de ce manuel

Objet Le but de ce manuel est de fournir des instructions élémentaires pour permettre :

- d'effectuer une analyse de séquençage
- d'analyser les résultats
- d'étalonner et d'effectuer la maintenance périodique de l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®

Pour plus d'informations

Où trouver des informations complémentaires Autres manuels et guides relatifs à l'Analyseur génétique 3100 :

Pour lire...	Consulter le...	Référence
des consignes de sécurité ou des informations sur la préparation du laboratoire pour accueillir l'Analyseur génétique 3100	*Guide de sécurité et de préparation du site de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*	4324533
des informations détaillées sur l'Analyseur génétique 3100	*Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*	4315834
des informations sur la préparation des échantillons et sur la sélection et l'optimisation des méthodes chimiques pour le séquençage sur l'Analyseur génétique 3100	*Guide de chimie du séquençage de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*	4315831
des informations détaillées sur l'analyse et l'affichage des données de séquençage à l'aide du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN	*Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM v. 3.7*	4308924
une procédure abrégée illustrant une analyse de fragment typique, l'affichage et l'analyse des données d'exploitation et l'exécution des opérations de maintenance courantes	*Guide de démarrage rapide pour l'analyse de fragment de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*	431532

Support technique

Comment contacter le support technique

Le support technique Applied Biosystems peut être consulté par téléphone ou télécopie, par courrier électronique ou sur l'Internet. Nos clients peuvent commander des documents utilisateur, des fiches signalétiques, des certificats d'analyse Applied Biosystems et d'autres documents apparentés 24 heures sur 24. Les utilisateurs peuvent en outre télécharger des documents en format PDF à partir du site Web Applied Biosystems (lire la section « Pour obtenir des documents sur demande » après les informations téléphoniques ci-dessous).

Contacter le support technique par courrier électronique

Contacter le support technique par courrier électronique pour obtenir de l'aide sur les produits suivants :

Type de produit	Adresse email
Analyse génétique (séquençage d'ADN)	galab@appliedbiosystems.com
Systèmes de détection séquentielle et ACP (PCR)	pcrlab@appliedbiosystems.com
Séquençage de protéines, Synthèse d'ADN et de peptides	corelab@appliedbiosystems.com
Biochromatographie, systèmes de synthèse peptidique, de PNA et d'ADN PerSeptive, spectromètres de masse CytoFluor®, FMAT™, Voyager™ et Mariner™	tsupport@appliedbiosystems.com
Applied Biosystems/MDS Sciex	support@sciex.com
Chimioluminescence (Tropix)	tropix@appliedbiosystems.com

Heures d'accès téléphonique du support technique

Le support technique est accessible au Canada et aux Etats-Unis aux heures suivantes :

Produit	Heures
Chimioluminescence	de 8 h 30 à 17 h 30 (Heure de l'Est)
Support Framingham	de 08 h 00 à 18 h 00 (Heure de l'Est)
Tous les autres produits	de 05 h 30 à 17 h 00 (Heure du Pacifique)

Contacter le support technique par téléphone ou fax

En Amérique du Nord

Pour contacter le support technique de Applied Biosystems, utiliser les numéros de téléphone ou de télécopie fournis ci-dessous. (Pour un appel de service lié à d'autres besoins techniques ou en cas d'urgence, composer le **1-800-831-6844** et appuyer sur **1**.)

Produit ou Type de produit	Par téléphone Composer...	Par télécopie Composer...
Analyseur d'ADN 3700 ABI PRISM®	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **8**	**1-650-638-5981**
Synthèse d'ADN	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **21**	**1-650-638-5981**

Produit ou Type de produit	Par téléphone Composer...	Par télécopie Composer...
Séquençage d'ADN fluorescent	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **22**	**1-650-638-5981**
Analyse de fragments fluorescents (incluant les applications de GeneScan®)	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **23**	**1-650-638-5981**
Cyclages thermiques intégrés (Instruments ABI PRISM® 877 et Catalyst 800)	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **24**	**1-650-638-5981**
Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **26**	**1-650-638-5981**
BioInformatique (incluant les applications BioLIMS®, BioMerge® et SQL GT®)	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **25**	**1-505-982-7690**
Synthèse peptidique (systèmes 433 et 43X)	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **31**	**1-650-638-5981**
Sequençage des protéines (Systèmes de séquençage de protéines Procise®)	**1-800-831-6844**, et appuyer sur **32**	**1-650-638-5981**
Détection séquentielle et ACP (PCR)	**1-800-762-4001**, appuyer sur **1** pour ACP, **2** pour le 7700 ou le 5700, **6** pour le 6700 ou composer le **1-800-831-6844**, et appuyer sur **5**	**1-240-453-4613**
Biospectrométrie MALDI-TOF Voyager™ et stations de spectrométrie de masse ESI-TOF Mariner™	**1-800-899-5858**, et appuyer sur **13**	**1-508-383-7855**
Biochromatographie (stations BioCAD® et appareils chromatographiques par perfusion Poros®)	**1-800-899-5858,** et appuyer sur **14**	**1-508-383-7855**
Systèmes de synthèse d'acide nucléique Expedite™	**1-800-899-5858**, et appuyer sur **15**	**1-508-383-7855**
Synthèse peptidique (synthétiseurs peptidiques Pioneer™ et 9050 Plus)	**1-800-899-5858**, et appuyer sur **15**	**1-508-383-7855**
Synthèse et PNA personnalisé	**1-800-899-5858**, et appuyer sur **15**	**1-508-383-7855**
Système FMAT™ 8100 HTS et lecteur de plaque par fluorescence CytoFluor® 4000	**1-800-899-5858**, et appuyer sur **16**	**1-508-383-7855**
Chimioluminescence (Tropix)	**1-800-542-2369** (uniquement aux Etats-Unis), ou **1-781-271-0045**	**1-781-275-8581**
Applied Biosystems/MDS Sciex	**1-800-952-4716**	**1-508-383-7899**

En dehors de l'Amérique du Nord

Région	Par téléphone Composer...	Par télécopie Composer...
Afrique et Moyen-Orient		
Afrique (anglophone) et Asie occidentale (Fairlands, Afrique du Sud)	**27 11 478 0411**	**27 11 478 0349**
Afrique du Sud (Johannesburg)	**27 11 478 0411**	**27 11 478 0349**

Région	Par téléphone Composer...	Par télécopie Composer...
Moyen-Orient et Afrique du Nord (Monza, Italie)	**39 (0)39 8389 481**	**39 (0)39 8389 493**
Extrême-Orient, Chine, Océanie		
Australie (Scoresby, Victoria)	**61 3 9730 8600**	**61 3 9730 8799**
Chine (Pékin)	**86 10 64106608**	**86 10 64106617**
Corée (Séoul)	**82 2 593 6470/6471**	**82 2 593 6472**
Hong-Kong	**852 2756 6928**	**852 2756 6968**
Malaisie (Petaling Jaya)	**60 3 758 8268**	**60 3 754 9043**
Singapour	**65 896 2168**	**65 896 2147**
Taïwan (Taïpei Hsien)	**886 2 22358 2838**	**886 2 2358 2839**
Thaïlande (Bangkok)	**66 2 719 6405**	**66 2 319 9788**
Europe		
Allemagne (Weiterstadt)	**49 (0) 6150 101 0**	**49 (0) 6150 101 101**
Autriche (Vienne)	**43 (0)1 867 35 75 0**	**43 (0)1 867 35 75 11**
Belgique	**32 (0)2 712 5555**	**32 (0)2 712 5516**
Danemark (Naerum)	**45 45 58 60 00**	**45 45 58 60 01**
Espagne (Tres Cantos)	**34 (0)91 806 1210**	**34 (0)91 806 1206**
Europe des Balkans (Zagreb, Croatie)	**385 1 34 91 927**	**385 1 34 91 840**
Finlande (Espoo)	**358 (0)9 251 24 250**	**358 (0)9 251 24 243**
France (Paris)	**33 (0)1 69 59 85 85**	**33 (0)1 69 59 85 00**
Hongrie (Budapest)	**36 (0)1 270 8398**	**36 (0)1 270 8288**
Italie (Milan)	**39 (0)39 83891**	**39 (0)39 838 9492**
Norvège (Oslo)	**47 23 12 06 05**	**47 23 12 05 75**
Pays-Bas (Nieuwerkerk a/d IJssel)	**31 (0)180 331400**	**31 (0)180 331409**
Pologne, Lituanie, Lettonie et Estonie (Varsovie)	**48 (22) 866 40 10**	**48 (22) 866 40 20**
Portugal (Lisbonne)	**351 (0)22 605 33 14**	**351 (0)22 605 33 15**
République tchèque et Slovaquie (Prague)	**420 2 61 222 164**	**420 2 61 222 168**
Royaume-Uni (Warrington, Cheshire)	**44 (0)1925 825650**	**44 (0)1925 282502**
Russie (Moscou)	**7 095 935 8888**	**7 095 564 8787**
Suède (Stockholm)	**46 (0)8 619 4400**	**46 (0)8 619 4401**
Suisse (Rotkreuz)	**41 (0)41 799 7777**	**41 (0)41 790 0676**
Tous les autres pays non cités (Warrington, UK)	**44 (0)1925 282481**	**44 (0)1925 282509**
Japon		
Japon (Hacchobori, Chuo-Ku, Tokyo)	**81 3 5566 6230**	**81 3 5566 6507**
Amérique latine		
Del.A. Obregon, Mexique	**305-670-4350**	**305-670-4349**

Accéder au support technique sur l'Internet

Nous encourageons vivement nos clients à visiter notre site Web pour consulter le forum aux questions et en savoir plus sur nos produits. Les utilisateurs peuvent également commander nos documents techniques ou un index des documents disponibles afin de les recevoir par télécopie ou par courrier électronique depuis notre site. L'adresse du site Web Applied Biosystems est

http://www.appliedbiosystems.com/techsupp

Pour envoyer des questions techniques depuis l'Amérique du Nord ou l'Europe :

Etape	Action
1	Accéder au site Web du support technique Applied Biosystems.
2	Sous l'en-tête **Troubleshooting** (Dépannage), cliquer sur **Support Request Forms** (Formulaires de demande de service), et sélectionner la zone de support correspondant au type de produit voulu.
3	Entrer les informations demandées et la question dans le formulaire affiché, et cliquer sur **Ask Us RIGHT NOW** (Posez votre question maintenant) (bouton bleu et texte jaune).
4	Entrer les informations requises dans le formulaire suivant (si cela n'a pas déjà été fait), et cliquer sur **Ask Us RIGHT NOW**. L'un de nos experts répondra à la question par voie électronique dans les 24 à 48 heures.

Obtenir des documents sur demande

Un accès gratuit 24 h/24 aux documents techniques Applied Biosystems, notamment aux fiches signalétiques, est accessible par télécopie ou par courrier électronique ou à partir du site Web.

Pour commander les documents...	Procédure...
par numéro d'index	a. Accéder au site Web du support technique Applied Biosystems à **http://www.appliedbiosystems.com/techsupp** b. Cliquer sur le lien **Index** pour le type de document voulu, puis identifier le document et noter le numéro d'index. c. Utiliser le numéro d'index pour demander les documents en fonction des procédures ci-dessous.
par téléphone pour une réponse télécopiée	a. Au Canada et aux Etats-Unis, appeler le **1-800-487-6809,** ou en dehors du Canada et des Etats-Unis, appeler le **1-858-712-0317**. b. Suivre les instructions vocales pour commander les documents voulus. **Remarque** La limite est de cinq documents par demande.

Pour commander les documents...	Procédure...
sur l'Internet pour une réponse télécopiée ou par courrier électronique	a. Accéder au site Web du support technique Applied Biosystems à **http://www.appliedbiosystems.com/techsupp** b. Sous **Resource Libraries** (Bibliothèques de ressources), cliquer sur le type de document voulu. c. Entrer ou sélectionner les informations demandées sur le formulaire affiché, et cliquer sur **Search** (Rechercher). d. Dans les résultats de recherche affichés, sélectionner la case à cocher associée au mode de livraison voulu pour chaque document identifié lors de la recherche, et cliquer sur **Deliver Selected Documents Now** (Envoyer les documents sélectionnés maintenant) (ou cliquer sur l'icône PDF pour télécharger le document immédiatement). e. Remplir le formulaire de renseignements (si cela n'a pas déjà été fait), et cliquer sur **Deliver Selected Documents Now** pour envoyer la commande. **Remarque** La limite est de cinq documents par demande à délivrer par fax, et aucune limite sur les documents envoyés par courrier électronique.

Sécurité

Mises en garde à l'attention des utilisateurs

Cinq types de mise en garde apparaissent dans la documentation destinée aux utilisateurs des instruments Applied Biosystems. Chaque mot implique un degré de mise en garde ou l'une des actions décrites ci-dessous.

Remarque Signale des informations utiles.

IMPORTANT Indique des informations nécessaires au bon fonctionnement de l'instrument.

⚠ ATTENTION Indique une situation potentiellement dangereuse susceptible d'entraîner des blessures légères ou mineures si elle n'est pas évitée. Ce message peut aussi servir de mise en garde contre les pratiques dangereuses.

⚠ AVERTISSEMENT Indique une situation potentiellement dangereuse susceptible d'entraîner des blessures graves voire la mort si elle n'est pas évitée.

⚠ DANGER Indique une situation dangereuse imminente qui entraînera des blessures graves voire la mort si elle n'est pas évitée. Cette mise en garde doit être limitée aux situations les plus extrêmes.

Mise en garde sur les dangers chimiques

⚠ AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. Certains produits chimiques utilisés avec les instruments et les protocoles Applied Biosystems sont potentiellement dangereux ; ils peuvent entraîner des blessures, des maladies, voire la mort.

- Lire et comprendre les fiches signalétiques (MSDS) sur la sécurité des produits chimiques fournies par le fabricant avant de stocker, manipuler ou utiliser les matériaux dangereux ou les produits chimiques.
- Limiter les contacts et éviter les inhalations des produits chimiques. Porter des équipements de protection appropriés en maniant les produits chimiques (*par ex.* lunettes de sûreté, gants ou vêtements de protection). Consulter la fiche signalétique pour les autres consignes de sécurité.
- Ne pas laisser les récipients des produits chimiques ouverts. Ils ne doivent être utilisés qu'avec une ventilation adéquate.
- Vérifier régulièrement l'absence de fuites ou d'écoulements des produits chimiques. En cas de fuite ou d'un écoulement du produit, respecter les directives de nettoyage du fabricant recommandées sur la fiche signalétique.
- Respecter toutes les réglementations et lois locales et nationales en vigueur quant à l'entreposage des produits chimiques, à leur manipulation et à leur élimination.

Mise en garde sur l'élimination des déchets chimiques

⚠ AVERTISSEMENT DECHETS CHIMIQUES DANGEREUX. Les déchets produits par les instruments Applied Biosystems sont potentiellement dangereux ; ils peuvent entraîner des blessures, des maladies, voire la mort.

- Lire et comprendre les fiches signalétiques (MSDS) sur la sécurité des produits chimiques dans le récipient de stockage des déchets avant d'entreposer, de manipuler ou d'éliminer les déchets chimiques.
- Manipuler les déchets chimiques dans une hotte fermée.
- Limiter les contacts ou éviter les inhalations des déchets chimiques. Porter des équipements de protection appropriés en maniant les produits chimiques (*par ex.* lunettes de sûreté, gants ou vêtements de protection).

- ♦ Une fois le récipient à déchets vidé, il doit être refermé hermétiquement avec le couvercle fourni.
- ♦ Eliminer le contenu du bac ou de la bouteille du récipient à déchets conformément aux bonnes pratiques du laboratoire et aux réglementations de la santé et de l'environnement locales et nationales en vigueur.

Guide de sécurité et de préparation du site

Le Guide de sécurité et de préparation du site est un document distinct, livré à chaque client qui a fait l'achat d'un instrument Applied Biosystems. Se reporter au guide destiné à l'instrument pour tous les détails sur la préparation du site, la sécurité de l'instrument, la sécurité chimique et les types de déchets.

A propos des fiches signalétiques (MSDS)

Certains des produits chimiques utilisés avec cet instrument peuvent être identifiés comme produits dangereux par leur fabricant. En présence de tels dangers, des mises en garde apparaissent bien en évidence sur les étiquettes de tous les produits chimiques.

Les fabricants de produits chimiques fournissent une fiche signalétique (MSDS) sur la sécurité du produit avant et/ou avec les livraisons de produits chimiques dangereux à leurs nouveaux clients, et avec le premier envoi d'un produit chimique dangereux lorsque la fiche signalétique est mise à jour. Les fiches signalétiques fournissent les consignes de sécurité destinées au stockage, à la manipulation, au transport et à la mise au rebut des produits chimiques dans des conditions sécurisées.

Nous recommandons fortement à nos clients de mettre à jour leurs archives lorsqu'ils reçoivent les nouvelles fiches signalétiques des produits chimiques dangereux.

⚠ AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. L'opérateur doit prendre connaissance des fiches signalétiques avant d'utiliser des réactifs ou des solvants.

Pour commander des fiches signalétiques

Nos clients peuvent commander des exemplaires supplémentaires gratuits des fiches signalétiques de sécurité sur les produits chimiques fabriqués ou distribués par Applied Biosystems à partir des renseignements suivants.

<table>
<tr><th>Pour commander des fiches signalétiques...</th><th>Procédure...</th></tr>
<tr><td>sur l'Internet</td><td>a. Aller sur notre site Web www.appliedbiosystems.com/techsupp
b. Cliquer sur MSDSs (Fiches signalétiques).
<table><tr><th>Si l'utilisateur a ...</th><th>Procédure...</th></tr><tr><td>le numéro de la fiche signalétique ou le numéro d'index du document sur demande</td><td>Entrer l'un de ces numéros dans le champ approprié sur cette page.</td></tr><tr><td>le numéro de référence du produit</td><td rowspan="2">Sélectionner Click Here (Cliquer ici), puis entrer le numéro de référence ou les mots clés dans le champ sur cette page.</td></tr><tr><td>Mot(s) clé(s)</td></tr></table>c. L'utilisateur peut ouvrir ou télécharger le document en format PDF (en utilisant Adobe® Acrobat® Reader™), ou demander à le recevoir par télécopie ou courrier électronique.</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Pour commander des fiches signalétiques...</th><th>Procédure...</th></tr>
<tr><td>par service téléphonique automatisé</td><td>Voir la section « Pour obtenir des documents sur demande » sous la section « Support technique ».</td></tr>
<tr><td>par téléphone aux Etats-Unis</td><td>Composer le 1-800-327-3002, puis le 1.</td></tr>
<tr><td>par téléphone du Canada</td><td><table><tr><th>Pour passer des commandes en...</th><th>Composer le 1-800-668-6913 et...</th></tr><tr><td>anglais</td><td>appuyer sur 1, sur 2, puis de nouveau sur 1</td></tr><tr><td>français</td><td>appuyer sur 2, sur 2, puis de nouveau sur 1</td></tr></table></td></tr>
<tr><td>par téléphone dans les autres pays</td><td>Se reporter à la région spécifique sous « Contacter le support technique par téléphone ou fax » sous « Support technique ».</td></tr>
</table>

Appeler le fabricant du produit chimique si celui-ci n’est pas fabriqué ou distribué par Applied Biosystems.

Etiquettes de sécurité de l’instrument

Des étiquettes de sûreté sont fixées sur l'instrument. Chaque étiquette comprend trois parties :

- Une zone de mise en garde, impliquant un niveau particulier d’observation ou d’action (*par ex.,* ATTENTION or AVERTISSEMENT). Si l’étiquette regroupe plusieurs risques, le texte de mise en garde signale le danger le plus important.
- Une fenêtre de message, expliquant le danger et l’intervention requise de l’utilisateur.
- Un symbole d'alerte à la sécurité, indiquant la présence d'un risque potentiel pour la sécurité corporelle. Se reporter au *Guide de sécurité et de préparation du site de l’analyseur génétique 3100 ABI PRISM* pour une explication de tous les symboles d’alerte à la sécurité en plusieurs langues.

A propos de l’élimination des déchets

La responsabilité incombe à l'opérateur, en tant que producteur de produits potentiellement dangereux, de prendre les mesures suivantes :

- caractériser (par une analyse si nécessaire) les déchets générés par les applications, les réactifs et les substrats particuliers utilisés dans le laboratoire.
- veiller à protéger la santé et la sécurité de tous les personnels du laboratoire.
- vérifier que les déchets de l'instrument sont convenablement stockés, transférés, transportés et éliminés en respectant toutes les réglementations locales et nationales en vigueur.

Remarque Les matériaux représentant un danger biologique ou radioactif exigent parfois une manipulation spéciale, et des limitations peuvent s'appliquer à leur élimination.

Avant d'utiliser l'instrument

S'assurer que toutes les personnes impliquées dans le fonctionnement de l'instrument ont :

- reçu une formation sur les pratiques de sécurité générales en laboratoire
- reçu une formation sur les pratiques de sécurité spécifiques à l'instrument
- lu et compris toutes les fiches signalétiques apparentées

⚠ ATTENTION Cet instrument ne doit pas être utilisé d'une manière qui ne serait pas spécifiée par Applied Biosystems. Même si l'instrument a été conçu pour la protection de son utilisateur, cette protection risque d'être entravée si l'instrument n'est pas utilisé correctement.

Utilisation efficace et sécurisée de l'ordinateur

Une bonne utilisation de l'ordinateur empêche les effets liés au stress tels que la fatigue, les douleurs et les tensions.

Pour réduire ces effets au minimum au niveau du dos, des jambes, des yeux et des extrémités de la partie supérieure du corps (cou, épaule, bras, poignets, mains et doigts), la station de travail doit être agencée de façon à promouvoir des postures de travail neutres ou détendues. Cela signifie également que le travail doit s'effectuer dans un environnement où le chauffage, la climatisation, la ventilation et l'éclairage sont correctement réglés. Lire les directives suivantes.

⚠ ATTENTION **DANGERS LIES A L'APPAREIL SQUELETTO-MUSCULAIRE ET A LA GESTUELLE ARTICULAIRE**. Ces dangers sont provoqués par les facteurs de risque potentiels suivants qui incluent sans s'y limiter, la gestuelle articulaire répétée, les positions maladroites, les efforts trop poussés, le maintien de postures statiques contraignantes, la pression de contact et d'autres facteurs liés à l'environnement des stations de travail.

- Utiliser une position assise procurant une combinaison optimale de confort, d'accessibilité au clavier et d'absence de pressions et de stress facteurs de fatigue.
  - La masse du poids du corps doit être supportée au niveau des fesses et non pas des cuisses.
  - Les pieds doivent être à plat sur le sol, et le poids des jambes doit être supporté par le sol, et non par les cuisses.
  - Prévoir un soutien lombaire pour assurer une courbe correcte de la colonne vertébrale.
- Placer le clavier sur une surface fournissant :
  - la hauteur appropriée pour le positionnement horizontal des avant-bras et vertical des bras.
  - le soutien des avant-bras et des mains pour éviter la fatigue musculaire au niveau des bras.
- Positionner l'écran de visualisation à une hauteur permettant la position normale de la tête et du corps. Cette hauteur varie en fonction des proportions physiques de l'utilisateur.
- Ajuster les facteurs de vision pour optimiser le confort et l'efficacité en :
  - ajustant les variables d'écran, telles que la luminosité, le contraste et la couleur en fonction des préférences personnelles et de l'éclairage ambiant.
  - positionnant l'écran pour minimiser les reflets provenant des sources lumineuses ambiantes.

- positionnant l’écran à une distance tenant compte des variables de l’utilisateur telles que l’hypermétropie, la myopie, l’astigmatisme et les effets des lentilles correctives.

♦ Utiliser quelques directives utiles en estimant la distance séparant l’utilisateur de l’écran :

- La distance entre les yeux et l’écran d’affichage doit correspondre approximativement à celle qui sépare les yeux du clavier.
- La distance de lecture la plus confortable pour la plupart des sujets est à 50 cm.
- La surface de la station de travail doit avoir une profondeur minimum de 90 cm pour permettre le réglage de la distance.
- Ajuster l’angle de l’écran pour minimiser les reflets et l’éblouissement, et éviter les surfaces trop réflectives pour la station de travail.

♦ Utiliser un porte-copie bien conçu, capable d’être ajusté dans le sens horizontal et vertical, qui permet de placer les documents de référence à une distance de visualisation équidistante de l’écran et du clavier.

♦ Garder les fils et les câbles hors de portée des utilisateurs et des va-et-vients.

♦ Choisir une station de travail avec une surface suffisamment large pour effectuer d’autres travaux et avec un espace suffisant entre le siège et la station de travail.

Mises en garde contre les risques d'électrocution

⚠ AVERTISSEMENT DANGER D’ELECTROCUTION. L'utilisation de l'appareil en alimentation haute tension pose un risque d'électrocution grave susceptible d'entraîner des blessures corporelles voire la mort. Pour éviter les risques d’électrocution, mettre l’instrument hors tension, débrancher le cordon d’alimentation et patienter 1 minute avant d’intervenir sur l’appareil.

⚠ AVERTISSEMENT DANGER D’ELECTROCUTION. Pour éviter les risques d'électrocution, ne pas enlever les capots dont l'ouverture nécessite l'utilisation d'outils. Ils ne protègent aucune pièce réparable par l’utilisateur. Confier l’entretien et les réparations Applied Biosystems à un personnel d’entretien qualifié.

Mise en garde sur les lasers

⚠ AVERTISSEMENT DANGER DE BRULURE PAR LASER. Un laser surchauffé peut provoquer des brûlures graves s’il entre en contact avec la peau. NE PAS faire fonctionner le laser s’il ne peut pas être refroidi par son ventilateur. Toujours porter des lunettes de sécurité laser.

Exécution d'une analyse de séquençage 2

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes.

Section	Voir page
Avant de commencer	2-2
Démarrage du logiciel 3100 Data Collection	2-3
Réglage des préférences sur le logiciel	2-5
Utilisation des ensembles plaques	2-7
Vérification et remplissage des liquides	2-9
Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons	2-12
Création d'un enregistrement de plaque	2-13
Liaison d'une plaque	2-19
Démarrage et surveillance de la série	2-23
Arrêt d'une série et récupération des données	2-24
Affichage, modification ou création d'un module d'électrophorèse	2-25
Affichage et modification d'un module d'analyse	2-27

Avant de commencer

Hypothèses de départ

Les procédures décrites dans ce chapitre tiennent compte des hypothèses suivantes :

- L'ordinateur et l'instrument ont été correctement configurés.
- L'instrument a été étalonné : les calibrations spatiale et spectrale ont été effectuées avec succès. Consulter le chapitre 4 de ce guide s'il y a lieu.
- L'espace est suffisant sur le disque dur de l'ordinateur. Consulter le chapitre 5 de ce guide s'il y a lieu.
- Les échantillons ont été correctement préparés et remis en suspension. Pour plus de détails sur la préparation des échantillons, se reporter au *Guide de chimie du séquençage de l'analyseur génétique ABI PRISM* (Réf. nº 4315831).

Démarrage du logiciel 3100 Data Collection

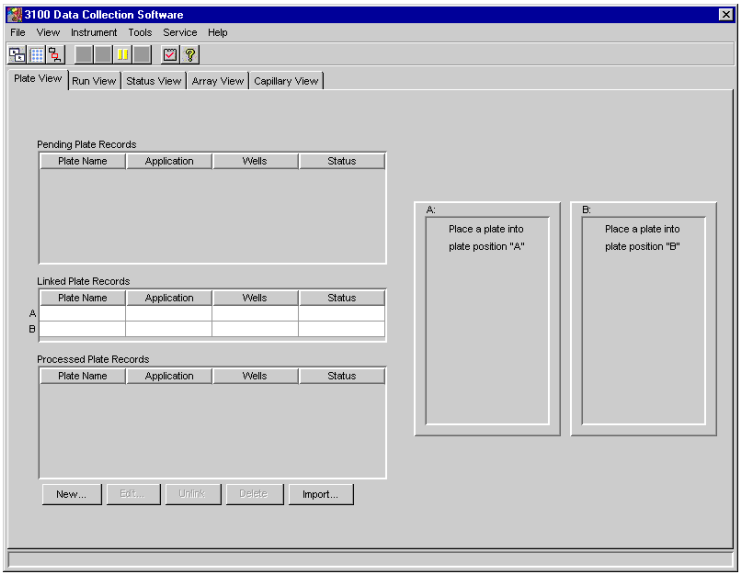
Avant de commencer

Avant de démarrer le logiciel de collecte des données :

Etape	Action
1	L'ordinateur et le moniteur doivent être sous tension. **IMPORTANT** L'ordinateur doit être mis sous tension avant l'instrument. Le nom d'utilisateur par défaut est « 3100User » et le mot de passe par défaut est vierge.
2	S'assurer que l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM® est sous tension et que le témoin vert est allumé en mode fixe (ne clignote pas).
3	S'assurer qu'OrbixWeb Daemon fonctionne en identifiant son bouton sur la barre des tâches de Windows NT. Si OrbixWeb ne fonctionne pas, aller au niveau du menu **Démarrer**, pointer vers **Applied Biosystems** et sélectionner **OrbixWeb Daemon**. **Remarque** Pour créer un raccourci : (a) Naviguer jusqu'au programme orbixd.exe dans le répertoire suivant : D:\dbtools\iona\orbixweb3.2\bin. (b) Effectuer un clic droit sur le fichier. (c) Cliquer sur **Créer un raccourci**. Cela permet de créer un raccourci nommé **Raccourci vers orbixd.exe**. (d) Faire glisser le raccourci vers le bureau. **IMPORTANT** OrbixWeb Daemon doit être lancé avant la mise en route du logiciel de collecte des données 3100.

Démarrage du logiciel de collecte des données

Pour démarrer le logiciel de collecte des données :

Etape	Action
1	A partir du menu **Démarrer**, pointer vers **Applied Biosystems**, et sélectionner **3100 Data Collection**. **Remarque** Pour créer un raccourci : (a) Naviguer jusqu'au fichier 3100Collection.bat dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\3100\Bin. (b) Effectuer un clic droit sur le fichier. (c) Cliquer sur **Create Shortcut**. Cela permet de créer un raccourci nommé **Raccourci vers le logiciel 3100 Collection Software**. (d) Faire glisser le raccourci vers le bureau. Le logiciel de collecte des données 3100 s'ouvre et la fenêtre suivante apparaît : 

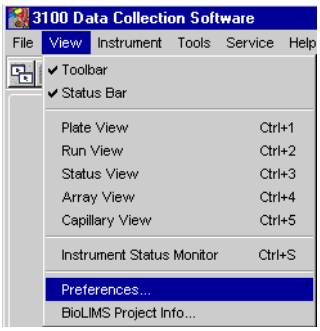
Réglage des préférences sur le logiciel

Introduction

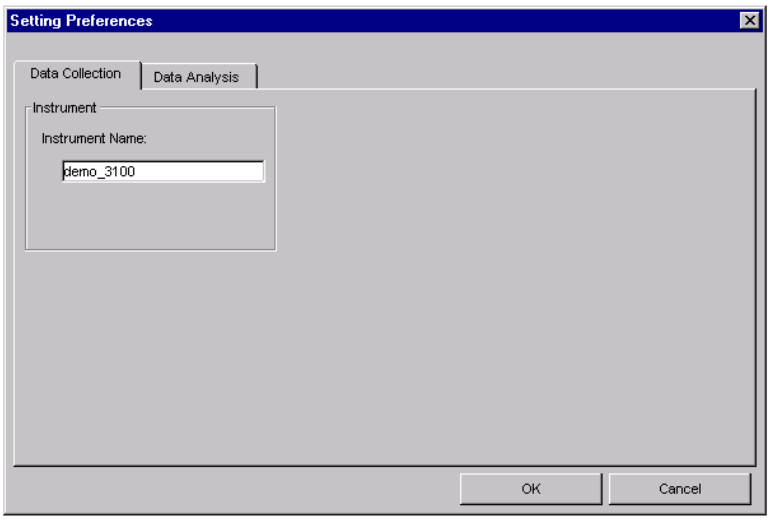
Le préférences du logiciel de collecte des données sont réglées pendant l'installation de l'instrument, mais elles peuvent être modifiées et visualisées dans la boîte de dialogue Setting Preferences (Réglage des préférences).

Boîte de dialogue de réglage des préférences

Pour visualiser la boîte de dialogue Setting Preferences :

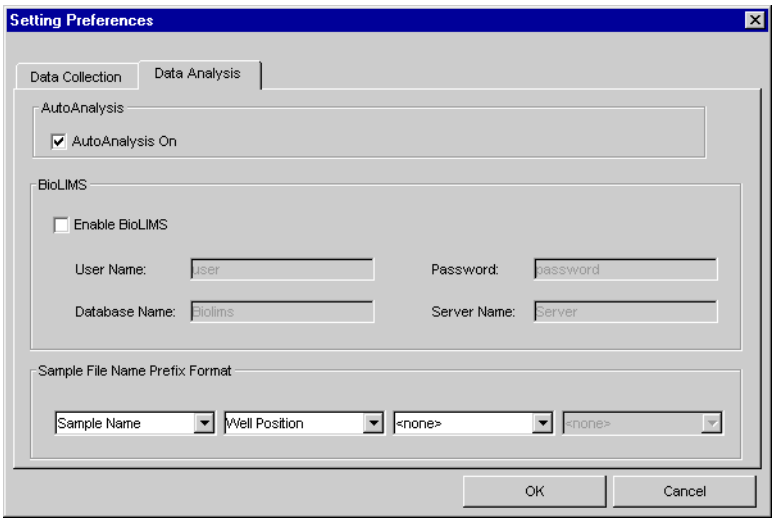
Etape	Action
1	A partir du menu **View** (Affichage), sélectionner **Preferences** ou cliquer sur le bouton du même nom sur la barre d'outils.  La boîte de dialogue montre les deux pages décrites ci-dessous.

Page de collecte des données



Préférence	Description
Nom de l'instrument	Ce champ est rempli automatiquement par **demo_3100.** L'opérateur peut lui attribuer n'importe quel nom (*par ex.*, le numéro de série de l'instrument).

Page d'analyse des données

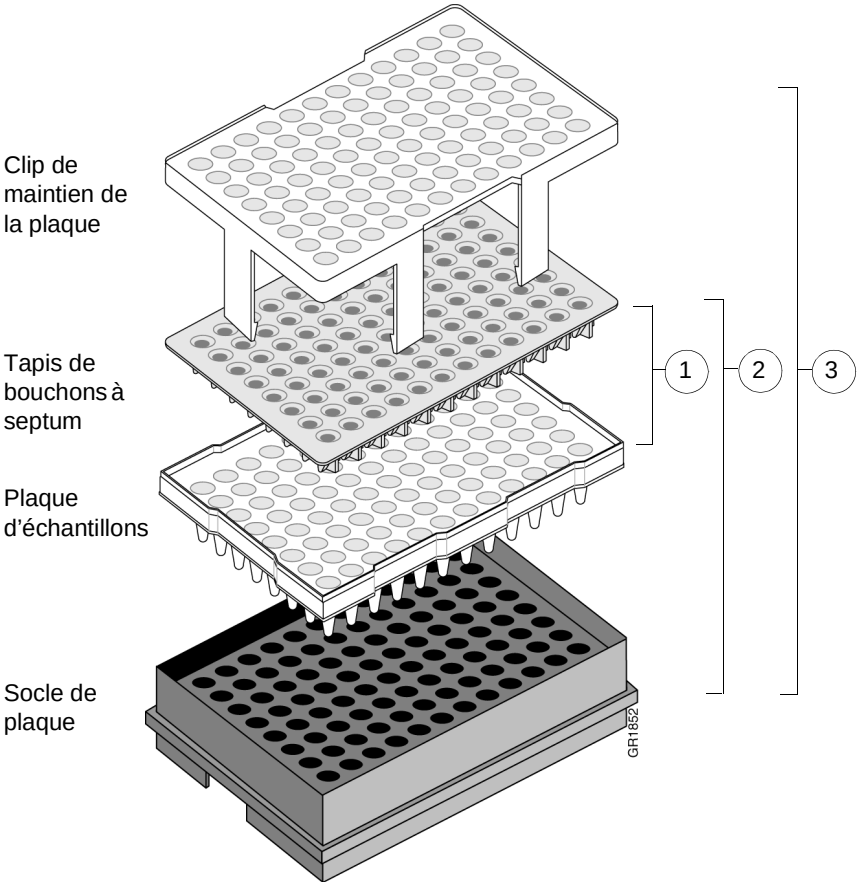


Préférence	Description
AutoAnalysis On	Sélectionner cette case pour analyser automatiquement les échantillons par le logiciel d'analyse après leur collecte. **Remarque** La sélection de cette option n'interdit pas de réanalyser les données de l'échantillon.
BioLIMS	Utiliser ces paramètres pour extraire les données vers une base de données BioLIMS plutôt que vers des fichiers échantillon.
Sample File Name Prefix Format	Spécifier le format à utiliser en préfixe pour les noms des fichiers échantillon en s'aidant des listes déroulantes pour réagencer les identificateurs. **Identificateur** / **Origine** Run ID — Identification de la série générée par le logiciel de collecte des données Sample Name — Nom d'échantillon extrait de la saisie du tableur Plate Editor Well Position — Position du puits tirée de la position de l'échantillon sur la plaque (lettre de colonne et numéro de ligne, *par ex.* C3) Plate Name — Nom de plaque extrait de la saisie de la boîte de dialogue Plate Editor Instrument ID — Identification de l'instrument extraite de la saisie des préférences sur la page Data Collection Array ID — Identification de barrette extraite de la saisie de l'assistant Install Capillary Array **Remarque** En plus des quatre identificateurs définis avec les menus déroulants, tous les noms sont automatiquement annexés au numéro du capillaire et à une extension de fichier. Par conséquent, dans la page Data Analysis affichée ci-dessus, on obtiendra le nom d'échantillon : *Sample Name_Well Position_Capillary Number*.ab1

Utilisation des ensembles plaques

Composants des ensembles de plaques

Les composants sont assemblés de la façon suivante :

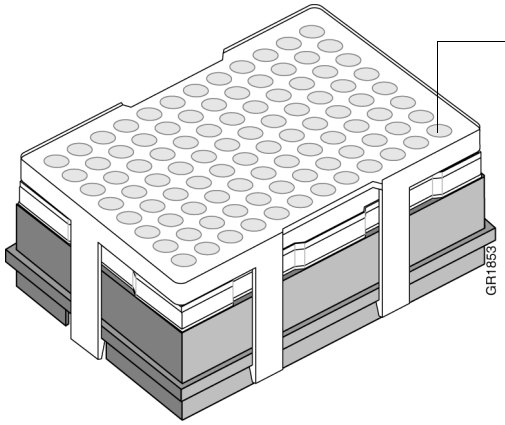


Préparation d'un ensemble plaque

Pour préparer un ensemble plaque :

Etape	Action
1	Fixer un tapis de bouchons propre et sec sur la plaque d'échantillons. **IMPORTANT** Ne jamais utiliser de plaques faussées. **IMPORTANT** Le tapis de bouchons doit être à plat sur la plaque.
2	Placer la plaque d'échantillons sur le socle.
3	Fixer le clip de maintien à la plaque et au socle.

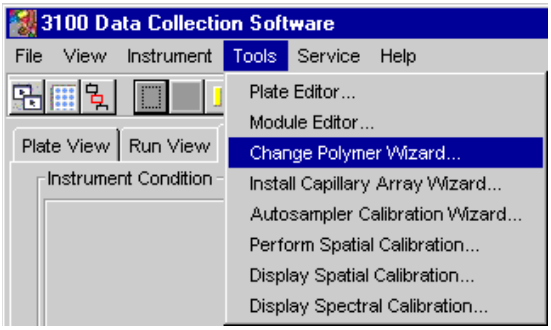
Pour préparer un ensemble plaque : *(suite)*

Etape	Action
4	Vérifier que les trous du clip de maintien et du tapis de bouchons sont alignés. **IMPORTANT** Les extrémités des capillaires risquent d'être endommagées si le clip de maintien et les trous du tapis de bouchons ne sont pas correctement alignés.  Les trous du clip de maintien doivent s'aligner avec ceux du tapis de bouchons.

Vérification et remplissage des liquides

Ajout ou changement du polymère

Déterminer si le polymère doit être ajouté ou changé sur l'instrument avant de procéder à la préparation de l'instrument.

Si le polymère sur l'instrument...	Procédure...
a moins d'une semaine, et dispose d'une quantité suffisante pour terminer les séries d'analyse[a]	Vérifier l'absence de bulles d'air, et procéder à la préparation de l'instrument. **Remarque** Pour éliminer les bulles d'air, se reporter à la page 5-4.
a plus d'une semaine, ou dispose d'une quantité insuffisante pour terminer les séries d'analyse	Remplir les seringues et le bloc polymère supérieur de polymère conformément à l'assistant de changement du polymère. Pour plus de détails, se reporter à la page 5-10.  **⚠ ATTENTION DANGER CHIMIQUE.** Le polymère **POP** risque de provoquer l'irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Prière de lire sa fiche signalétique et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés. Réservé à la recherche et au développement.

a. Il faut >0,5 ml. Un passage d'analyse utilise 50–80 µl de polymère, soit l'équivalent de 60 à 100 séries à partir d'une seringue de 5 ml.

IMPORTANT Toujours remplacer le polymère âgé de plus d'1 semaine.

IMPORTANT Vérifier l'absence de bulles d'air dans le bloc polymère supérieur avant de poursuivre. Pour éliminer les bulles d'air, se reporter à la page 5-4.

Quand faut-il remplacer le tampon

Remplacer quotidiennement le tampon 1X dans les réservoirs de tampon anodique et de tampon cathodique, ou avant chaque série d'analyses.

IMPORTANT Le non-remplacement du tampon risque de provoquer une perte de résolution et de qualité des données.

IMPORTANT Pour le remplissage du tampon et le positionnement de la plaque, le passeur d'échantillons doit être placé en position avant, les extrémités des capillaires étant retirées de la solution tampon. Ne pas laisser le passeur d'échantillons dans cette position pendant plus de 30 mn car les capillaires peuvent sécher.

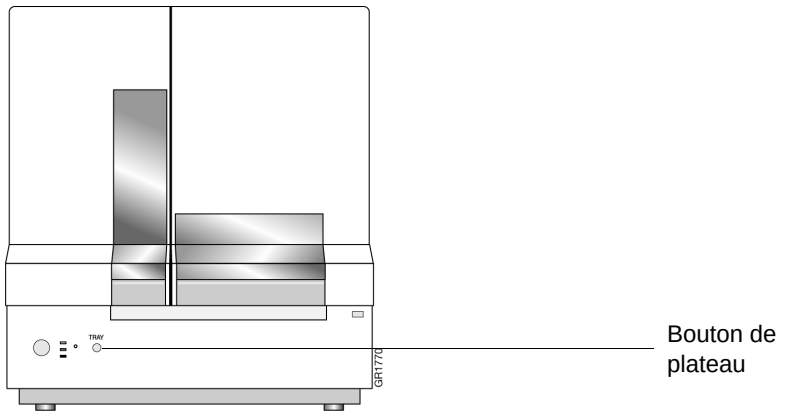
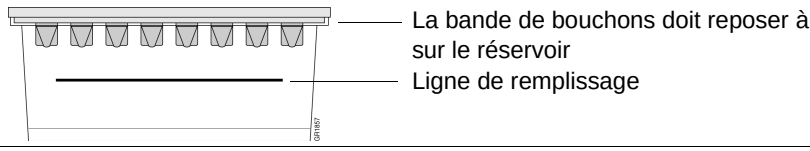
Préparation d'un tampon pour une seule analyse

Pour préparer 30 ml de tampon 1X :

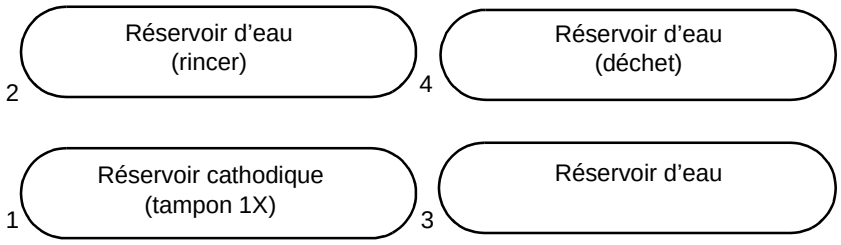
Etape	Action
1	Ajouter 3,0 ml de tampon 10X dans une éprouvette graduée.
2	Ajouter de l'eau désionisée pour amener le volume total à 30 ml.
3	Bien mélanger.

Remplissage des réservoirs d'eau et de tampon cathodique

Pour remplir les réservoirs d'eau et de tampon cathodique :

Etape	Action
1	Refermer les portes de l'instrument.
2	Appuyer sur le bouton du plateau sur le panneau externe de l'instrument pour amener le passeur d'échantillons en position avant. 
3	Attendre l'arrêt du passeur d'échantillons, puis ouvrir les portes de l'instrument.
4	Retirer les réservoirs d'eau et de tampon cathodique de l'instrument.
5	Jeter les liquides restants et rincer les réservoirs à l'eau désionisée. **Remarque** Les déchets sont très dilués, mais il faut respecter les pratiques d'évacuation des déchets appropriées.
6	Rincer le réservoir cathodique avec le tampon 1X, puis remplir jusqu'au repère avec le tampon 1X (environ 17 ml).
7	Remplir les réservoirs d'eau jusqu'à la ligne avec de l'eau désionisée de qualité (environ 17 ml).
8	Placer une bande de bouchons propre sur chaque réservoir, et sécher la surface externe des réservoirs à l'aide d'un chiffon non-pelucheux. **Remarque** Nous conseillons d'étiqueter les réservoirs pour éviter de les mélanger. **⚠ ATTENTION** La bande de bouchons doit être ajusté de façon serrée et à niveau avec le dessus des réservoirs pour ne pas endommager les extrémités des capillaires. 

Pour remplir les réservoirs d'eau et de tampon cathodique : *(suite)*

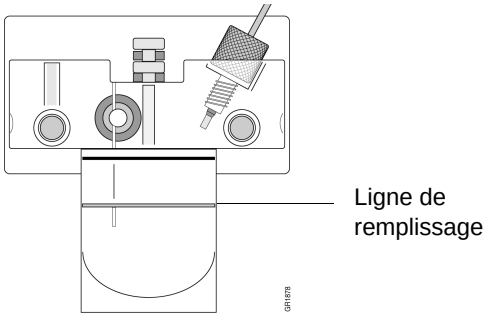
Etape	Action
9	Placer les réservoirs en position sur le passeur d'échantillon comme indiqué ci-dessous. 

Remplissage du réservoir de tampon anodique

Changer le tampon anodique :

- Avant chaque série, ou au moins toutes les 24 heures
- A chaque remplissage du bloc polymère avec du nouveau polymère

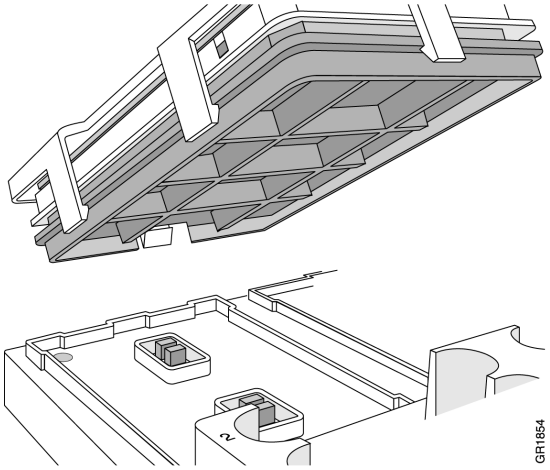
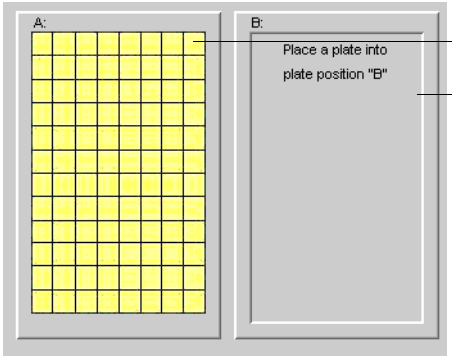
Pour remplir le réservoir de tampon anodique jusqu'au repère avec le tampon 1X :

Etape	Action
1	Enlever le réservoir de tampon anodique en le poussant fermement vers le bas d'un lent mouvement de torsion.
2	Jeter le tampon usagé de façon appropriée.
3	Nettoyer et rincer le réservoir à l'eau désionisée, puis rincer à l'aide du tampon.
4	Remplir le réservoir jusqu'au repère de remplissage avec un tampon 1X frais (environ 8 ml). 
5	Placer le réservoir de tampon anodique sur l'instrument. **Remarque** Le ménisque doit s'aligner avec la ligne repère.
6	Si le réservoir se remplit de liquide, répéter cette procédure pour jeter et remplacer le tampon. **Remarque** Le réservoir peut se remplir durant l'élimination des bulles.

Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons

Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons

Pour positionner la plaque sur le passeur d'échantillons :

Etape	Action
1	Placer l'ensemble plaque sur le passeur d'échantillons comme cela est indiqué ci-dessous. **Remarque** Il n'y a qu'une orientation pour la plaque : le côté encoché du socle doit être vers le fond du passeur.  **IMPORTANT** Vérifier que l'ensemble s'ajuste à plat sur le passeur d'échantillons. Si cette mesure n'est pas observée, les extrémités des capillaires risquent de soulever les plaques du passeur d'échantillons.
2	Lorsque la plaque est correctement positionnée, l'indicateur de positionnement de plaque sur la page **Plate View** (Fenêtre de plaque) passe du gris au jaune. Vérifier que ce changement s'est bien produit.  Plaque positionnée en position A Aucune plaque en position B
3	Refermer les portes de l'instrument. **Remarque** La fermeture des portes renvoie le passeur d'échantillons dans la dernière position qu'il occupait avant l'ouverture des portes.

Création d’un enregistrement de plaque

A propos des enregistrements de plaque

Les enregistrements de plaque mémorisent dans les tableaux de base de données de l’instrument des informations sur les plaques et sur les échantillons qu’elles contiennent.

Remarque Les enregistrements de plaque sont similaires aux feuilles d’échantillonnage ou aux listes d’injections utilisées avec d’autres instruments ABI PRISM.

Création d’un enregistrement de plaque avec l’Editeur de plaque

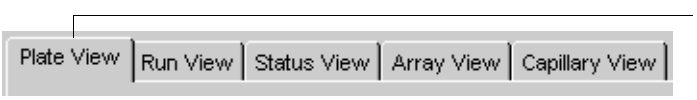
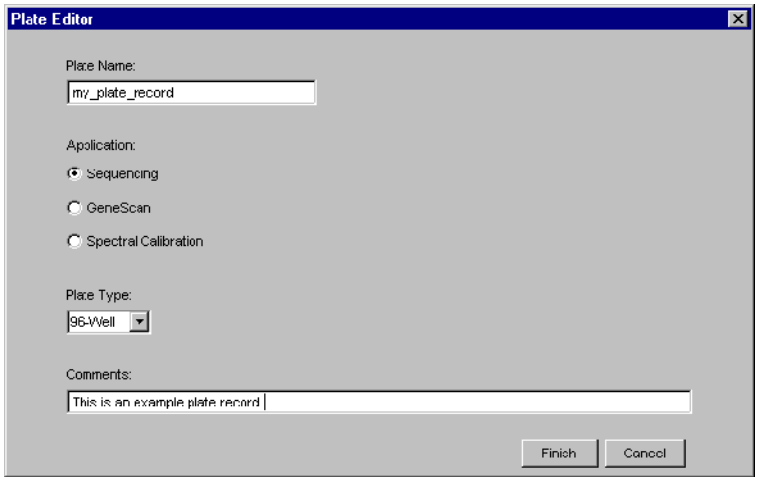
Observer les deux procédures suivantes pour créer un enregistrement de plaque à l'aide de Plate Editor.

Se reporter au *Manuel d’utilisation de l’analyseur génétique 3100 ABI PRISM* (Réf. nº 4315834) pour créer des enregistrements de plaque selon d’autres méthodes, et importer et exporter les enregistrements de plaque.

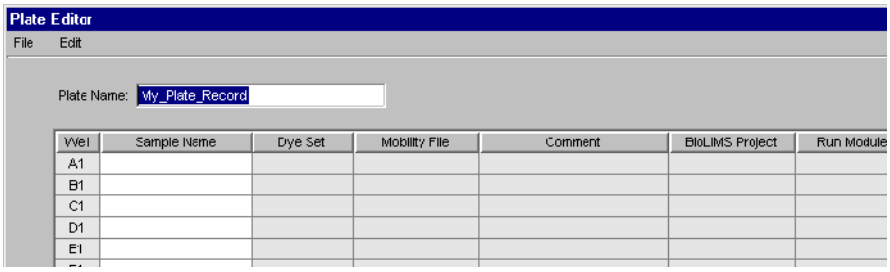
Saisie des enregistrements de plaque

Remarque On ne peut pas créer d’enregistrement de plaque tant qu’une analyse est en cours.

Pour saisir les informations des enregistrements de plaque :

Etape	Action
1	Cliquer sur l’onglet **Plate View** (Fenêtre de plaque) de la fenêtre **3100 Data Collection Software** pour passer à la page **Plate View**. 
2	Cliquer sur le bouton de l’Editeur de plaque sur la barre d’outils. La boîte de dialogue **Plate Editor** apparaît. 

Pour saisir les informations des enregistrements de plaque : *(suite)*

Etape	Action
3	Dans la boîte de dialogue **Plate Editor** : ♦ nommer la plaque. ♦ désigner l'application. ♦ sélectionner le type de plaque. ♦ saisir des commentaires (facultatif). **IMPORTANT** Pour désigner la plaque, l'opérateur peut utiliser des lettres, des chiffres et seulement les caractères de ponctuation suivants : -_(){}#.+. Ne pas utiliser d'espaces.
4	Une fois l'opération terminée, cliquer sur **Finish**. Le tableur **Plate Editor** s'ouvre. 

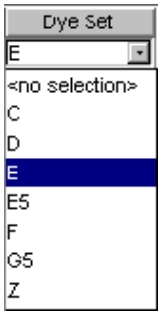
Saisie des informations sur l'échantillon

Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque :

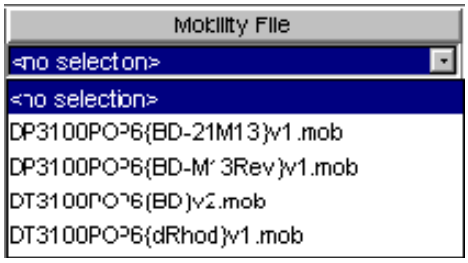
Etape	Action
1	Dans le tableur **Plate Editor**, taper les noms de tous les échantillons dans la colonne **Sample Name** (Nom des échantillons) **Remarque** En vertu de la convention d'écriture par défaut, le nom de l'échantillon est incorporé une fois frappé dans le nom du fichier échantillon. Par exemple : **MySample_A01_.ab1** Position du puits Nom d'échantillon saisi L'opérateur peut modifier la convention d'écriture des fichiers échantillon dans la boîte de dialogue **Preferences**. Voir page 2-6 pour plus de détails. **IMPORTANT** Pour désigner les échantillons, l'opérateur peut utiliser des lettres, des chiffres et seulement les caractères de ponctuation suivants : -_(){}#.+. Ne pas utiliser d'espaces. **IMPORTANT** Les noms des fichiers échantillon ne doivent pas compter plus de 59 caractères. Il n'y a pas de vérification d'erreurs automatique pour les noms d'échantillon dépassant cette limite. Les noms de fichier échantillon plus longs ne seront pas ouverts par le logiciel d'analyse.

Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>2</td><td>Pour chaque échantillon, sélectionner le jeu de fluorophores Dye Set approprié dans la liste déroulante. Pour le logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM®, sélectionner le jeu de fluorophores Dye Set E.

IMPORTANT Vérifier que le jeu de fluorophore sélectionné convient pour la série ou les séries d'analyse effectuées. Si les données sont recueillies en ayant sélectionné un mauvais jeu de fluorophores, les analyses doivent être recommencées.</td></tr>
<tr><td>3</td><td>Pour chaque échantillon, sélectionner le fichier de mobilité Mobility File approprié dans la liste déroulante.

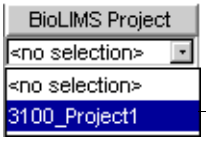
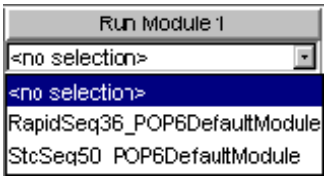
 

Remarque Il faut parfois redimensionner la colonne pour faire apparaître le nom complet du fichier. Pour cela, placer le curseur entre les en-têtes de colonne (le curseur prend la forme d'une flèche à deux têtes) et faire glisser vers la droite.

Le tableau suivant montre le fichier de mobilité à sélectionner en fonction de la chimie de séquençage utilisée.

<table>
<tr><th>Chimie de séquençage d'ADN</th><th>Fichier de mobilité</th></tr>
<tr><td>Chimie d'amorces fluorescentes ABI PRISM® BigDye™ ; utilisant l'amorce -21m13</td><td>DP3100POP6{BD-21M13}v1.mob</td></tr>
<tr><td>Chimie d'amorces fluorescentes BigDye ; utilisant l'amorce M13reverse</td><td>DP3100POP6{BD-M13Rev}v1.mob</td></tr>
<tr><td>Chimie de terminateur fluorescent ABI PRISM® BigDye™</td><td>DT3100POP6{BD}v2.mob</td></tr>
<tr><td>Chimie de terminateur fluorescent dRhodamine ABI PRISM®</td><td>DT3100POP6{dRhod}v1.mob</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

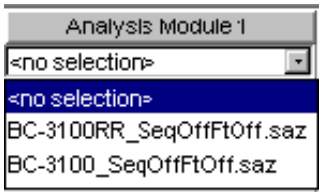
Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque : *(suite)*

Etape	Action
4	Entrer un projet BioLIMS. **IMPORTANT** Un projet BioLIMS doit être désigné pour chaque échantillon même si aucune base de données BioLIMS n'est utilisée. a. Cliquer sur la cellule **BioLIMS Project** pour le puits A1. b. Sélectionner un nom de projet sur la liste déroulante.  **IMPORTANT** Il faut saisir un projet BioLIMS. **Remarque** Pour plus de détails sur la configuration d'un projet BioLIMS, consulter le *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*. c. Pour attribuer le même nom de projet à chaque échantillon de l'enregistrement de plaque : – Cliquer sur l'en-tête de colonne pour sélectionner toute la colonne. – Appuyer sur CTRL+D. **Remarque** Appuyer sur CTRL+D chaque fois qu'un champ est identique pour tous les échantillons de l'enregistrement de plaque.
5	Pour chaque échantillon, sélectionner le **Run Module** (Module d'électrophorèse) approprié dans la liste déroulante.  **Remarque** Pour afficher ou modifier un fichier de module d'électrophorèse, se reporter à la page 2-25. Le tableau suivant montre les choix de modules d'électrophorèse basés sur le type d'analyse : **Type d'électrophorèse** / **Module d'électrophorèse** Séquençage d'ADN standard / StdSeq50_POP6DefaultModule Séquençage d'ADN rapide / RapidSeq36_POP6DefaultModule **Remarque** Si on sélectionne un module différent pour plusieurs échantillons, ceux-ci sont automatiquement regroupés de sorte que les échantillons de même module sont analysés en même temps. L'exécution des séries d'analyse est programmée selon l'ordre alphanumérique du nom de module, et non pas dans l'ordre des enregistrements de plaque ou des noms d'échantillon.

Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>6</td><td>Pour chaque échantillon, sélectionner le Analysis Module (Module d'analyse) approprié dans la liste déroulante.

IMPORTANT La préférence AutoAnalysis doit être sélectionnée pour une autoanalyse après la série (voir page 2-6).

Le tableau suivant montre les choix de modules d'analyse à sélectionner en fonction du type d'analyse effectué :

<table>
<tr><th>Type d'électrophorèse</th><th>Module d'analyse</th></tr>
<tr><td>Séquençage d'ADN standard</td><td>BC-3100_SeqOffFtOff.saz</td></tr>
<tr><td>Séquençage d'ADN rapide</td><td>BC-3100RRv2_SeqOffFtOff.saz</td></tr>
</table>

Remarque Les paramètres définis pour chacun de ces fichiers peuvent être examinés à partir du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN. L'explication de ces paramètres est traitée dans le Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM (Réf. nº 4308924).</td></tr>
<tr><td>7</td><td>Si l'opérateur souhaite analyser de nouveau le même échantillon, sélectionner un deuxième module d'électrophorèse et un deuxième module d'analyse. Un échantillon dans une plaque liée peut être analysé cinq fois au total.

Les échantillons sont ensuite automatiquement regroupés, de sorte que tous les échantillons d'un même module d'électrophorèse sont analysés de façon séquentielle.</td></tr>
</table>

Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque : *(suite)*

Etape	Action
8	Vérifier que l'enregistrement de plaque est correct, et cliquer sur **OK**.

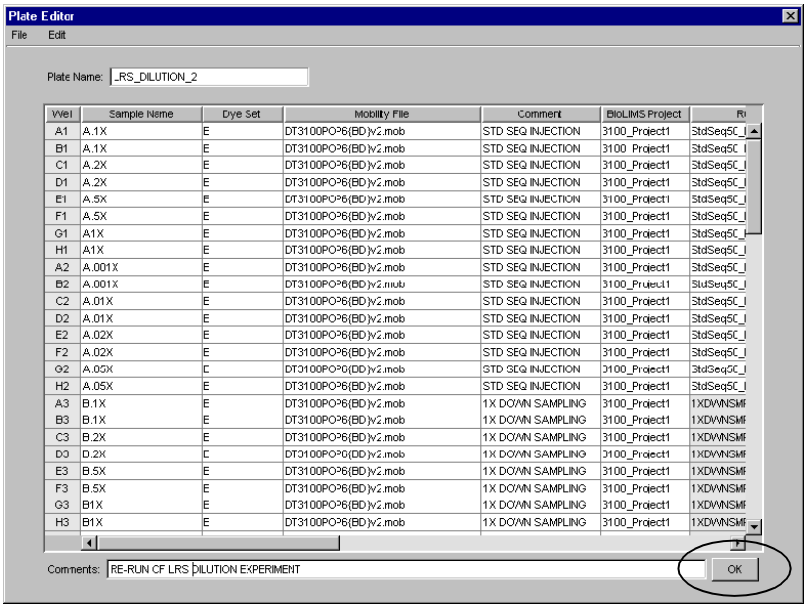
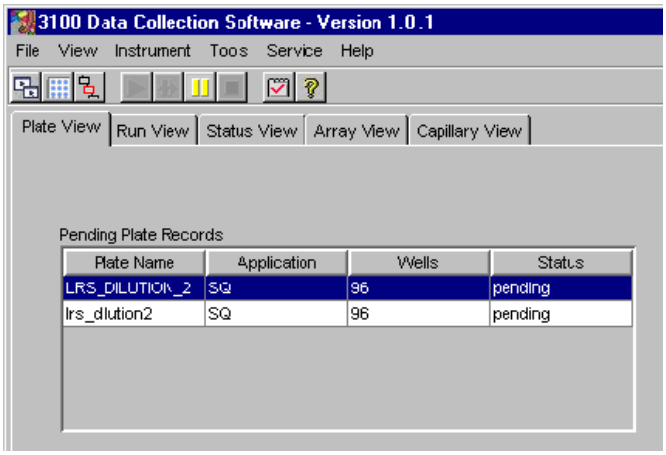


Plate Editor
File
Edit
Plate Name: _RS_DILUTION_2
Wel
Sample Name
Dye Set
Mobility File
Comment
BioLIMS Project
A1 A.1X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
B1 A.1X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
C1 A.2X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
D1 A.2X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
E1 A.5X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
F1 A.5X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
G1 A1X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
H1 A1X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
A2 A.001X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
C2 A.01X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
D2 A.01X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
E2 A.02X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
F2 A.02X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
H2 A.05X E DT3100POP6(BD)v2.mob STD SEQ INJECTION 3100_Project1
A3 B.1X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
B3 B.1X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
C3 B.2X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
E3 B.5X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
F3 B.5X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
G3 B1X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
H3 B1X E DT3100POP6(BD)v2.mob 1X DOWN SAMPLING 3100_Project1
Comments: RE-RUN OF LRS DILUTION EXPERIMENT
OK

Remarque Patienter pendant que le nouvel enregistrement de plaque est consigné dans la base de données et ajouté au tableau **Pending Plate Records** (Enregistrements des plaques provisoires) comme indiqué ci-dessous.

Remarque Pour qu'un enregistrement de plaque utilise un nom déjà utilisé, l'ancien enregistrement doit d'abord être supprimé de la base de données.



Liaison d’une plaque

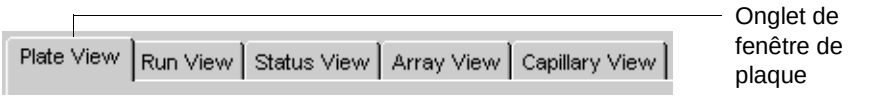
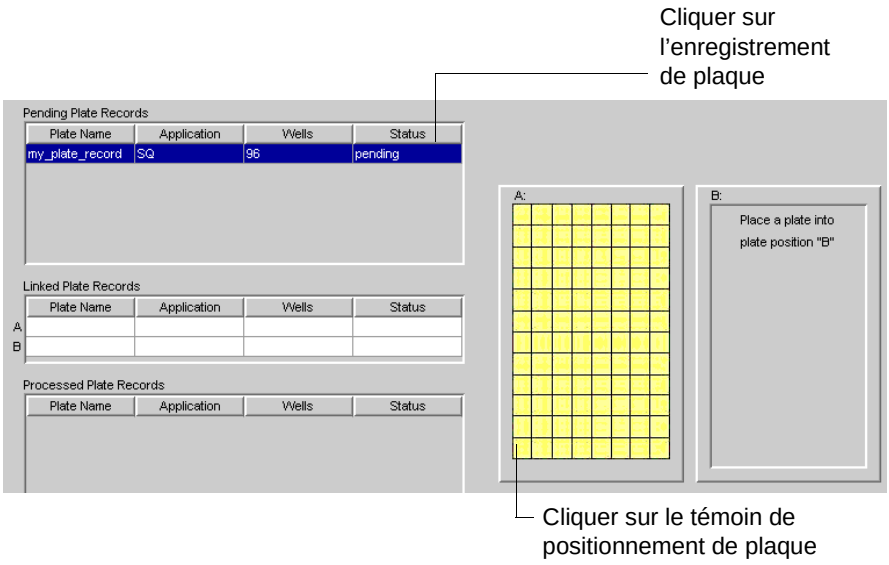
Introduction

Cette procédure explique comment lier une plaque sur le passeur d'échantillons à l’enregistrement de plaque qui vient d’être créé. Cette opération doit intervenir avant d’analyser la plaque.

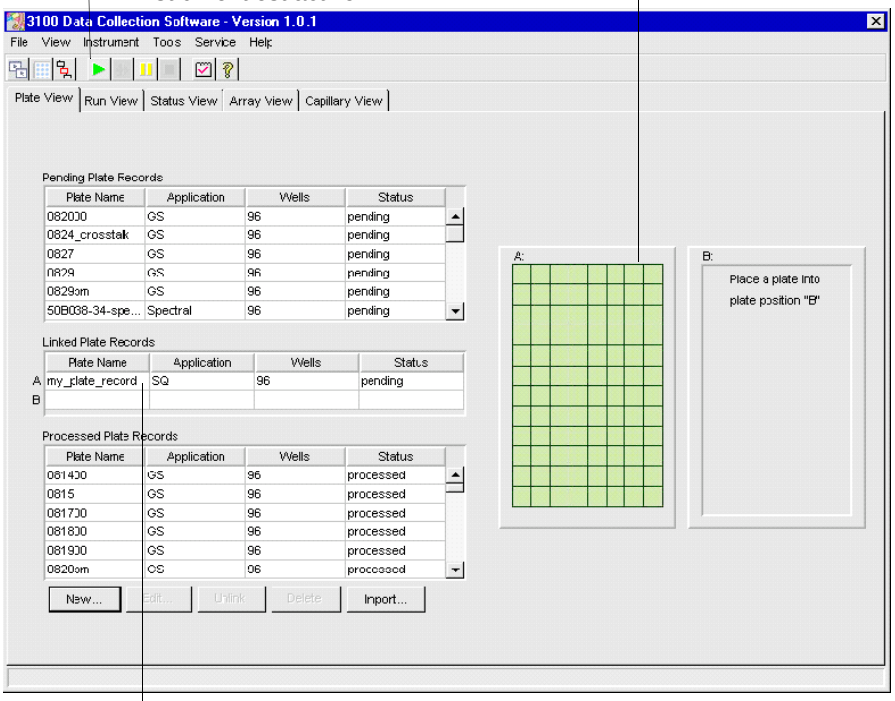
IMPORTANT Une plaque peut être liée même si aucun module d’électrophorèse n’a été sélectionné pour ses échantillons. Dans ce cas, aucun message d’erreur n’apparaît et aucune série d’analyse ne sera programmée pour les échantillons de la plaque.

Liaison d’une plaque à un enregistrement de plaque

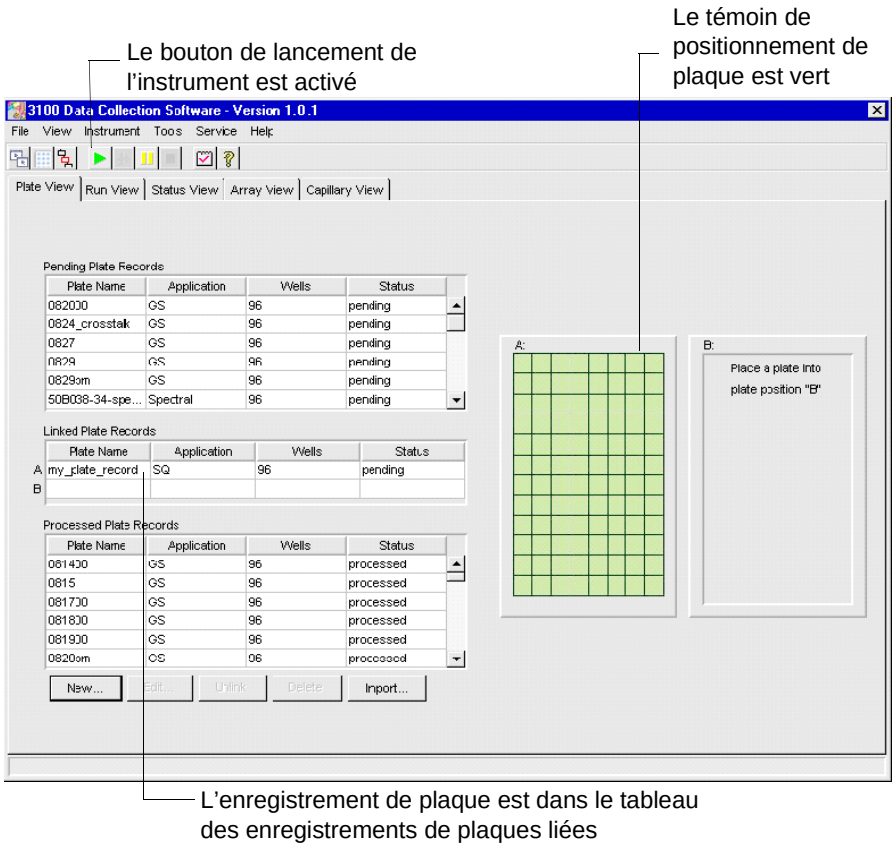
Pour lier une plaque à un enregistrement :

Etape	Action
1	Cliquer sur l’onglet **Plate View** (Fenêtre de plaque) de la fenêtre **3100 Data Collection Software** pour passer à la page **Plate View**. 
2	Sur la page **Plate View** : a. Dans le tableau **Pending Plate Records** (Enregistrements de plaque provisoires), cliquer sur l’enregistrement associé à la plaque qui doit être liée. b. Cliquer sur le témoin de positionnement de plaque associé à la plaque de liaison. 

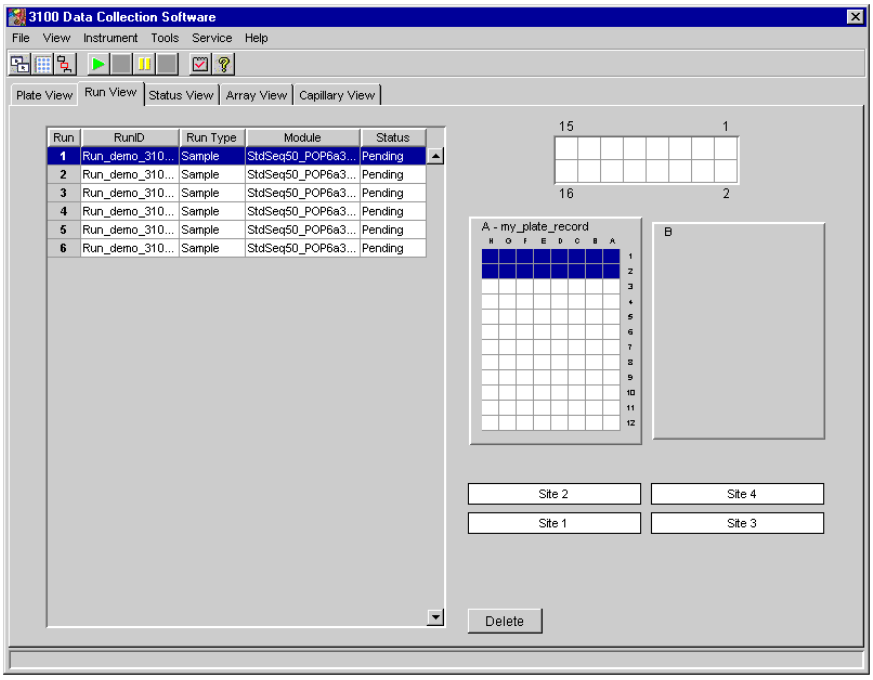
Pour lier une plaque à un enregistrement : *(suite)*

Etape	Action
3	Vérifier que la plaque a bien été liée. Une fois cela vérifié : ♦ Le bouton **Run Instrument** (Lancer l'instrument) sur la barre d'outils est activé, ce qui signifie que l'instrument est prêt à fonctionner. ♦ Le témoin de positionnement pour la plaque liée devient vert. ♦ L'enregistrement de plaque passe du tableau **Pending Plate Records** au tableau des **Linked Plate Records** (Enregistrements des plaques liées). Le bouton de lancement de l'instrument est activé Le témoin de positionnement de plaque est vert  L'enregistrement de plaque est dans le tableau des enregistrements de plaques liées
4	Répéter les étapes 1 à 3 pour lier une deuxième plaque s'il y a lieu.

Pour lier une plaque à un enregistrement : *(suite)*

Etape	Action
3	Vérifier que la plaque a bien été liée. Une fois cela vérifié : ♦ Le bouton **Run Instrument** (Lancer l'instrument) sur la barre d'outils est activé, ce qui signifie que l'instrument est prêt à fonctionner. ♦ Le témoin de positionnement pour la plaque liée devient vert. ♦ L'enregistrement de plaque passe du tableau **Pending Plate Records** au tableau des **Linked Plate Records** (Enregistrements des plaques liées). 
4	Répéter les étapes 1 à 3 pour lier une deuxième plaque s'il y a lieu.

Pour lier une plaque à un enregistrement : *(suite)*

Etape	Action
5	Cliquer sur l'onglet **Run View** (Fenêtre d'exécution) pour visualiser le calendrier de la série d'analyse. **Remarque** Même si l'opérateur peut supprimer des passages particuliers, il ne peut pas modifier leur ordre d'exécution. La programmation des séries dépend d'un certain nombre de facteurs ; se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM* pour plus de détails. 

Démarrage et surveillance de la série

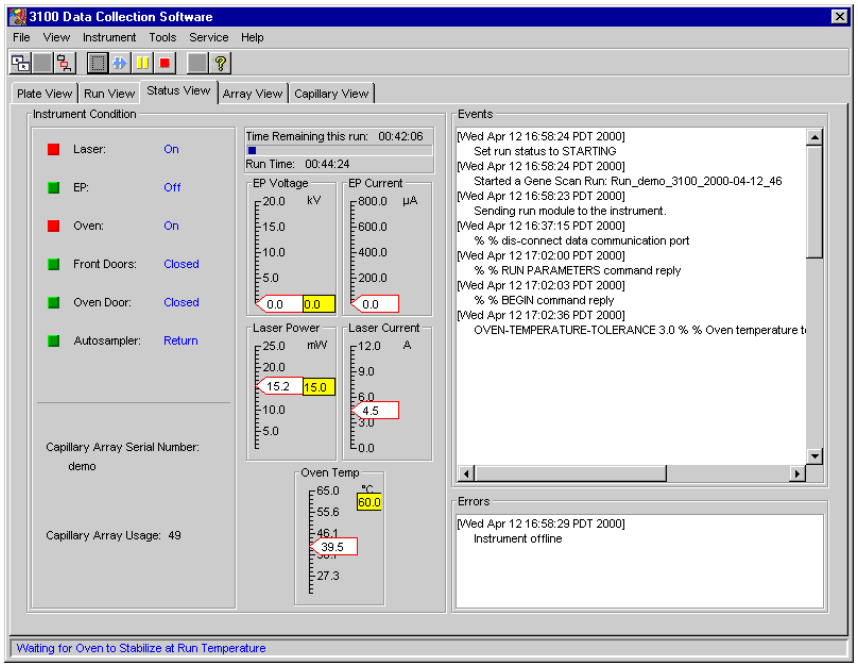
Démarrage d'une série

Pour lancer une série :

Etape	Action
1	Cliquer sur le bouton vert **Run Instrument** (Lancer l'instrument) pour lancer les séries d'analyse programmées.

Surveillance d'une série

Pour surveiller une série :

Etape	Action
1	Cliquer sur l'onglet **Status View** (Fenêtre d'état) pour surveiller l'état de l'instrument pendant la série. 
2	L'opérateur peut visualiser les données pendant l'analyse en utilisant les pages **Array View** (Fenêtre de barrette) et **Capillary View** (Fenêtre capillaire). **IMPORTANT** Toujours refermer les fenêtres Array View et Capillary View. Ne pas laisser ces fenêtres ouvertes pendant un temps prolongé lors d'une série ; des problèmes irrécupérables de mise à jour des fenêtres risquent de se produire. Laisser la fenêtre Status View ouverte. Pour plus d'informations concernant les fenêtres de barrette et de capillaires, lire la section « Affichage des données brutes d'une série terminée dans le logiciel de collecte des données » à la page 3-2.

Arrêt d’une série et récupération des données

Arrêt d’une série et passage à une série suivante

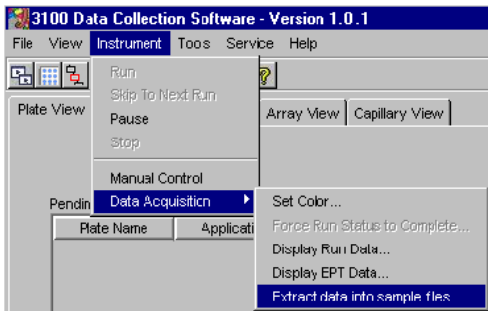
Quand une analyse est en cours, les boutons de passage à la série suivante, de pause et d’arrêt de série sont visibles sur la barre d’outils.

Pour arrêter la série en cours et...	Cliquer sur...
poursuivre les autres séries programmées	le bouton de **passage à la série suivante**.
arrêter les autres séries programmées	a. le bouton d’**arrêt**. b. **Now** dans la boîte de dialogue **Question**.

Si l’autoextraction échoue

L’extracteur automatique doit avoir extrait automatiquement les données de la série interrompue. Dans la négative, utiliser l’option Extract data into sample files (Extraire les données dans les fichiers échantillon) de la façon suivante.

Pour récupérer les données d’une série interrompue :

Etape	Action
1	A partir du menu **Instrument**, pointer vers **Data Acquisition** (Acquisition des données) et sélectionner **Extract data into sample files**.  Observer l’apparition du message « Sample Files Successfully Extracted » (Extraction des fichiers échantillon réussie) sur la barre d’état. **Remarque** Les données extraites ne sont pas analysées. Utiliser le logiciel Sequencing Analysis pour analyser les fichiers échantillon.

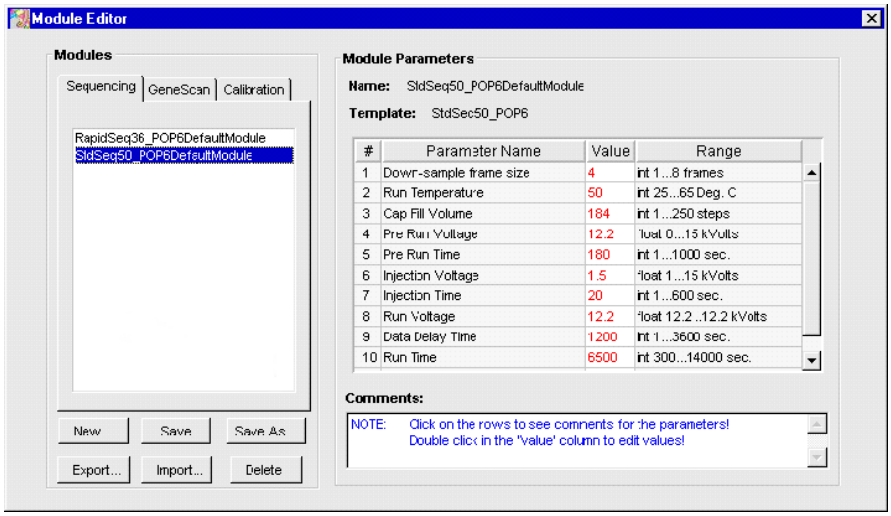
Affichage, modification ou création d'un module d'électrophorèse

Introduction

Le module d'électrophorèse définit comment l'échantillon est analysé pendant l'exécution de la série (*c.à d.*, la durée de la série, sa température et le temps d'injection).

Affichage d'un module d'électrophorèse

Pour visualiser un module d'électrophorèse :

Etape	Action
1	Cliquer sur le bouton de l'Editeur de module sur la barre d'outils. La boîte de dialogue **Module Editor** s'ouvre.
2	Dans la zone de groupes **Modules**, cliquer sur l'onglet **Sequencing** (Séquençage).
3	Pour afficher les paramètres d'un module particulier, sélectionner le nom du module sur la liste. Tous les paramètres du module d'électrophorèse apparaissent. 

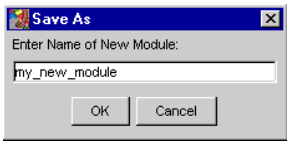
Modification ou création d'un module d'électrophorèse

Pour modifier un module d'électrophorèse existant ou en créer un nouveau :

Etape	Action
1	Cliquer sur le bouton de le **Module Editor** sur la barre d'outils. La boîte de dialogue **Module Editor** s'ouvre.
2	Sélectionner le module d'électrophorèse à utiliser comme modèle.
3	Modifier les valeurs de réglage souhaitées. **IMPORTANT** Seuls les nombres entiers sont acceptés. **IMPORTANT** Veiller à ce que toutes les valeurs soient rouges : les valeurs en noir ne sont pas enregistrées.

Pour modifier un module d'électrophorèse existant ou en créer un nouveau : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>4</td><td>
<table>
<tr><th>Pour...</th><th>Procédure...</th></tr>
<tr><td>enregistrer les changements apportés au module</td><td>Cliquer sur Save (Enregistrer)

Remarque La fonction d'enregistrement Save ne s'applique pas aux modules d'électrophorèse par défaut.</td></tr>
<tr><td>créer un nouveau module d'électrophorèse</td><td>a. Cliquer sur Save As (Enregistrer sous).
b. Entrer un nom descriptif unique et cliquer sur OK.
 
</td></tr>
</table>
</td></tr>
<tr><td>5</td><td>Une fois l'opération terminée, cliquer sur le bouton de fermeture ( ) pour quitter l'Editeur de module.</td></tr>
</table>

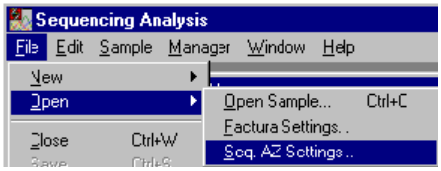
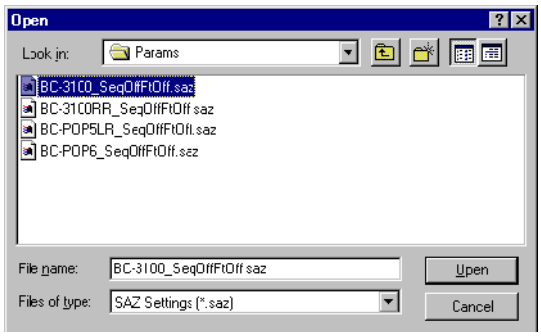
Affichage et modification d’un module d’analyse

Introduction

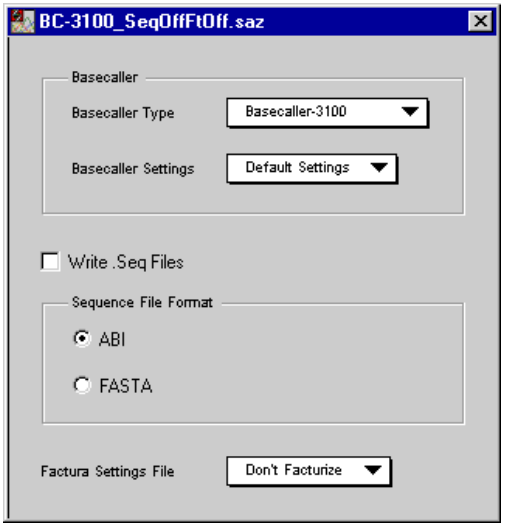
Le module d’analyse définit comment les données brutes sont analysées automatiquement à la fin de la série (*c.à d.*, paramètres d'assignation des bases et paramètres Factura).

Affichage et modification d’un module d’analyse

Pour afficher ou modifier le module d’analyse (fichier .saz) :

Etape	Action
1	Lancer le logiciel d’analyse du séquençage. L’utilisateur peut placer une icône du programme sur le menu **Démarrer**. Sinon, le programme d’analyse du séquençage d’ADN (SeqA.exe) réside dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\SeqAnal\Bin
2	Dans le menu **File** (Fichier), sélectionner **Open** (Ouvrir), puis **Seq. AZ Settings (**Paramètres Seq. AZ**).** 
3	Sélectionner le module d’analyse à afficher ou modifier. Les modules d’analyse sont stockés dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\Shared\Analysis\Sizecaller\Params 
4	Cliquer sur **Open**. Le fichier des paramètres d’analyse du séquençage d’ADN s’ouvre.

Pour afficher ou modifier le module d'analyse (fichier .saz) : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>5</td><td>


Les réglages suivants peuvent être modifiés :
♦ L'option Basecaller Type (Type d'assignation des bases) permet de choisir entre Basecaller-3100 (pour le séquençage standard) et Basecaller-3100RR (pour le séquençage en lecture rapide). Ces fichiers sont situés dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\Shared\Analysis\Basecaller\Params.
♦ Les paramètres Basecaller Settings (Paramètres d'assignation des bases) sont désignés dans la boîte de dialogue Preferences (accessible à partir du menu Edit).
♦ Si la case Write .Seq Files (Enregistrer les fichiers .Seq) est sélectionnée, les fichiers texte de la séquence référencée sont enregistrés en formats ABI ou FASTA.
♦ Si un fichier Factura Settings File (Fichier de paramètres Factura) est sélectionné, un traitement Factura sera appliqué pendant l'analyse.
– Pour afficher ou modifier un fichier de paramètres Factura : Dans le menu File (Fichier), sélectionner Open (Ouvrir), puis Factura Settings (Paramètres Factura).
– Ces fichiers sont situés dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\Shared\Analysis\Factura
</td></tr>
<tr><td>6</td><td>
<table>
<tr><th>Si l'opérateur apporte des changements au module d'analyse et souhaite...</th><th>Procédure...</th></tr>
<tr><td>enregistrer les modifications dans un nouveau module d'analyse</td><td>a. Dans le menu File, sélectionner Save As (Enregistrer sous).
b. Entrer un nom unique et cliquer sur OK.</td></tr>
<tr><td>enregistrer les changements dans le module d'analyse courant</td><td>Dans le menu File, sélectionner Save (Enregistrer).</td></tr>
<tr><td>ignorer les changements</td><td>Cliquer sur le bouton de fermeture pour refermer la fenêtre.</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

Affichage et analyse des données 3

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
Affichage des données brutes d'une série terminée dans le logiciel de collecte des données	3-2
Affichage des données analysées	3-5
Analyse ou réanalyse des données	3-11

Remarque On suppose pour la lecture de ce chapitre que les données d'exploitation ont été extraites et transférées dans les fichiers échantillon. Si l'Analyseur génétique 3100 est utilisé en association au système de base de données BioLIMS®, se reporter au *Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM* (Réf. nº 4308924) pour plus de détails sur l'accès de la base de données à l'aide du programme d'analyse.

Affichage des données brutes d'une série terminée dans le logiciel de collecte des données

Introduction

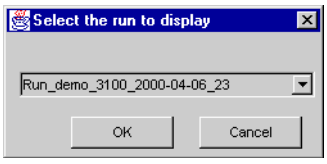
Les données brutes sont divisées en blocs de données de fluorescence traitée par la matrice multicomposante (corrigés pour le chevauchement spectral) mais aucune correction de mobilité n'a été appliquée. Il y a deux façons d'afficher les données brutes dans le logiciel de collecte des données 3100 :

- sur la page Array View (Fenêtre de barrette), comme on observerait les résultats d'un fichier gel d'un instrument ABI PRISM à gel sur plaque par exemple.
- sur la page Capillary View (Fenêtre des capillaires), un capillaire à la fois.

IMPORTANT Toujours refermer les fenêtres Array View et Capillary View. Ne pas laisser ces pages ouvertes pendant une période prolongée lors d'une série. Cela risquerait d'entraîner des problèmes de mise à jour irrécupérables sur l'écran. Laisser la fenêtre Status View (Fenêtre d'état) ouverte.

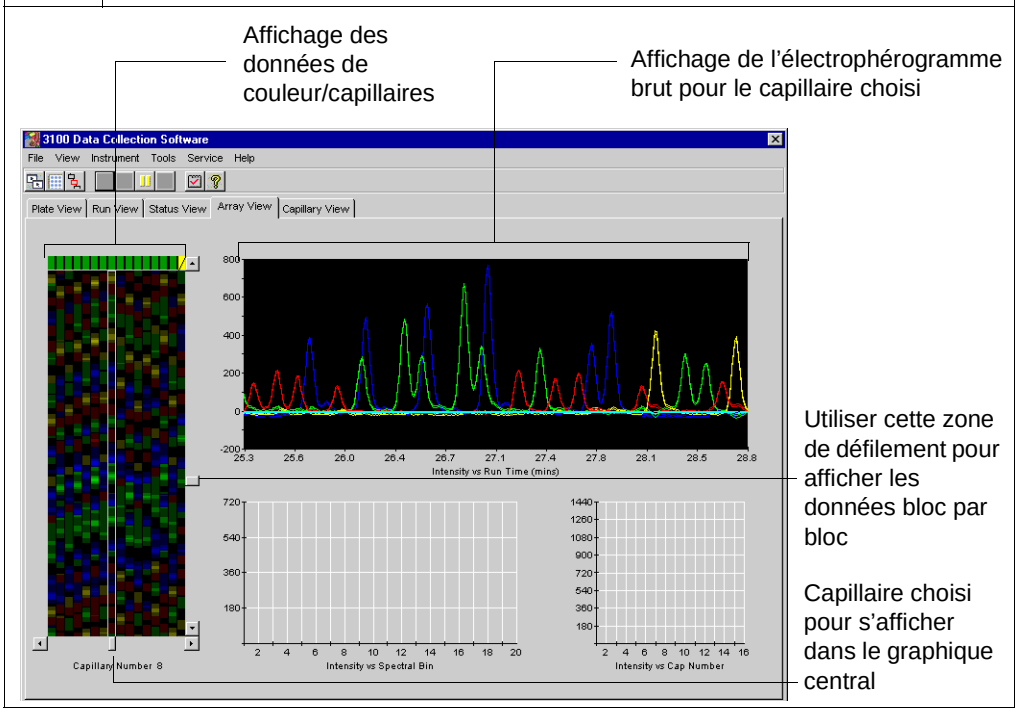
Affichage des données brutes

Pour afficher les résultats d'une série terminée :

Etape	Action
1	Dans le logiciel de collecte des données 3100, cliquer sur l'onglet **Array View** (Fenêtre de barrette) pour afficher la page de ce nom.
2	A partir du menu **Instrument**, pointer vers **Data Acquisition** (Acquisition des données) et sélectionner **Display Run Data** (Afficher les résultats de la série). Cette action ouvre la boîte de dialogue **Select the run to display** (Choisir la série à afficher). 
3	Dans la liste déroulante, sélectionner la série à afficher et cliquer sur **OK**. **Remarque** Toutes les séries terminées peuvent être visualisées à partir de la base de données de l'instrument. **Remarque** Il faut attendre quelques instants pour récupérer les résultats.

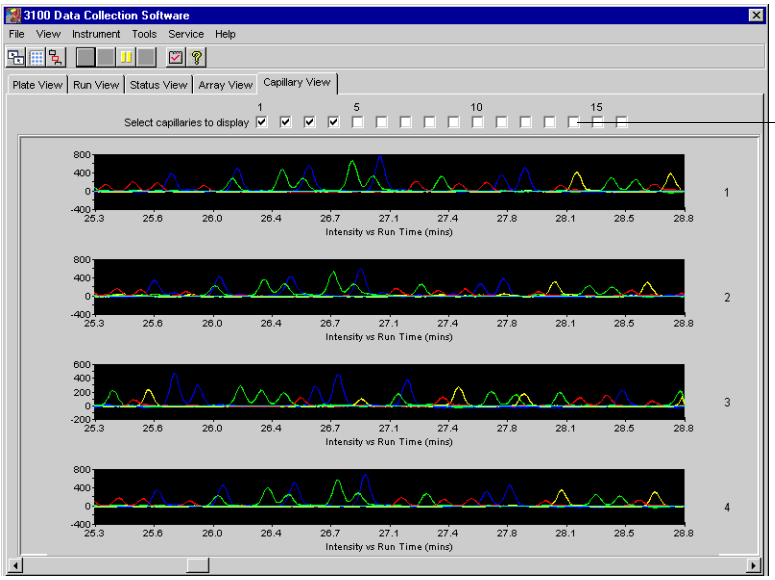
Pour afficher les résultats d'une série terminée : *(suite)*

Etape	Action
4	Utiliser les fonctions de défilement sur la page **Array View** pour afficher les données. **IMPORTANT** Toujours refermer les fenêtres **Array View** et **Capillary View**. Ne pas laisser ces pages ouvertes pendant une période prolongée lors d'une série. Cela risquerait d'entraîner des problèmes de mise à jour irrécupérables sur l'écran. Laisser la fenêtre **Status View** (Fenêtre d'état) ouverte.


Affichage des données de couleur/capillaires
Affichage de l'électrophérogramme brut pour le capillaire choisi
3100 Data Collection Software
File View Instrument Tools Service Help
Plate View Run View Status View Array View Capillary View
Intensity vs Run Time (mins)
Capillary Number 8
Intensity vs Spectral Bin
Intensity vs Cap Number
Utiliser cette zone de défilement pour afficher les données bloc par bloc
Capillaire choisi pour s'afficher dans le graphique central

Pour afficher les résultats d'une série terminée : *(suite)*

Etape	Action
5	Une autre solution, pour afficher l'électrophérogramme de plusieurs capillaires à la fois, consiste à cliquer sur l'onglet **Capillary View** pour afficher la page de ce nom. **IMPORTANT** Toujours refermer les fenêtres **Array View** et **Capillary View**. Ne pas laisser ces pages ouvertes pendant une période prolongée lors d'une série. Cela risquerait d'entraîner des problèmes de mise à jour irrécupérables sur l'écran. Laisser la fenêtre **Status View** (Fenêtre d'état) ouverte.



Cocher les cases des capillaires à afficher

Affichage des données analysées

Introduction

Une fois les données de série extraites vers les fichiers échantillon, le logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM® permet d'afficher les données, brutes et analysées, de l'électrophérogramme.

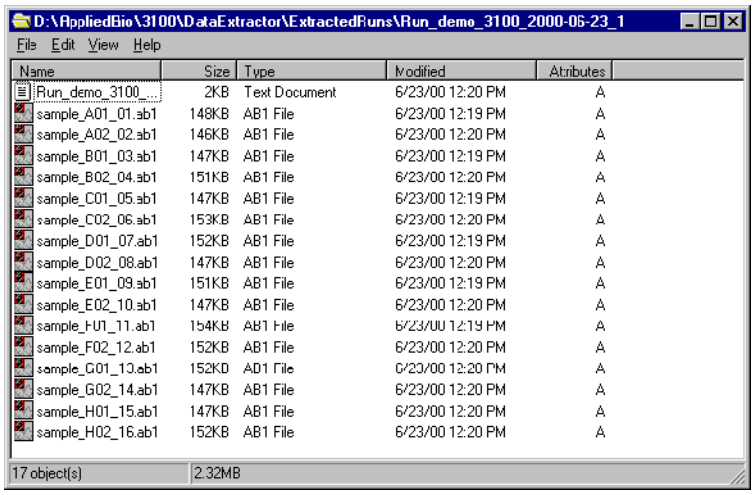
Se reporter au *Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM* (Réf. nº 4308924) pour plus de détails sur l'affichage et sur l'analyse des résultats du séquençage.

Emplacement des fichiers échantillon

Quand la série est terminée, les fichiers échantillon analysés sont extraits dans un dossier d'exploitation, ainsi que le journal de la série, dans le répertoire suivant :

D:\AppliedBio\3100\DataExtractor\ExtractedRuns

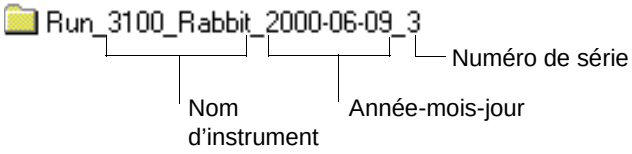
Un exemple de dossier de série et de son contenu est illustré ci-dessous.


D:\AppliedBio\3100\DataExtractor\ExtractedRuns\Run_demo_3100_2000-06-23_1
File Edit View Help
Name Size Type Modified Attributes
Run_demo_3100_... 2KB Text Document 6/23/00 12:20 PM A
sample_A01_01.ab1 148KB ABI File 6/23/00 12:19 PM A
sample_A02_02.ab1 146KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_B01_03.ab1 147KB ABI File 6/23/00 12:19 PM A
sample_B02_04.ab1 151KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_C01_05.ab1 147KB ABI File 6/23/00 12:19 PM A
sample_C02_06.ab1 153KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_D01_07.ab1 152KB ABI File 6/23/00 12:19 PM A
sample_D02_08.ab1 147KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_E01_09.ab1 151KB ABI File 6/23/00 12:19 PM A
sample_E02_10.ab1 147KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_F01_11.ab1 154KB ABI File 6/23/00 12:19 PM A
sample_F02_12.ab1 152KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_G01_13.ab1 152KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_G02_14.ab1 147KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_H01_15.ab1 147KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
sample_H02_16.ab1 152KB ABI File 6/23/00 12:20 PM A
17 object(s) 2.32MB

Dossier de série Nom par défaut

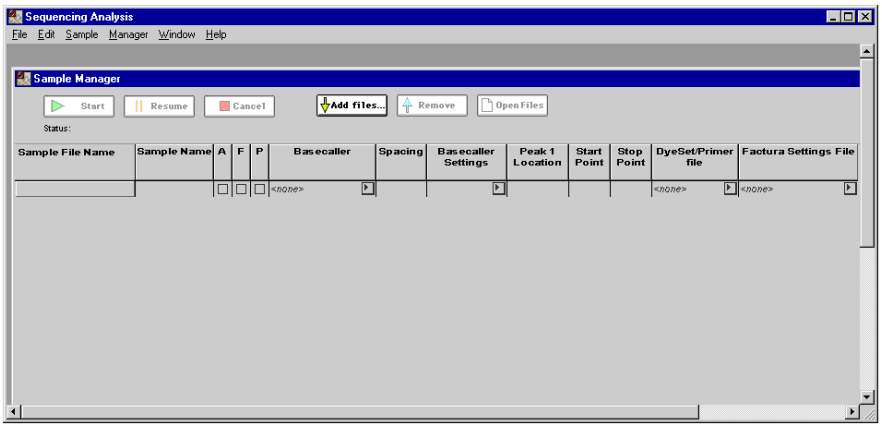
Le nom par défaut du dossier de série est :
Run_<Instrument name>_<date>_<runID>.

Un exemple de nom de dossier de série est illustré ci-dessous.

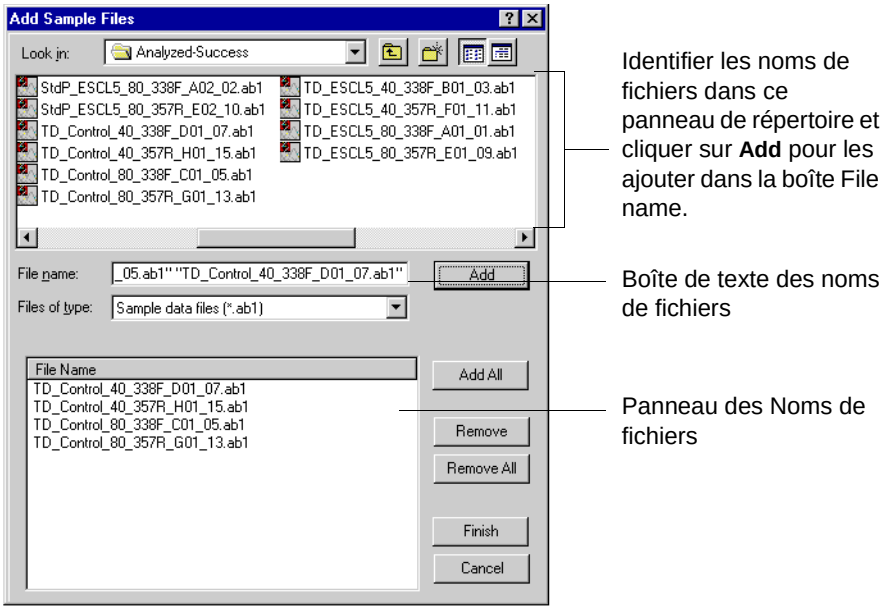
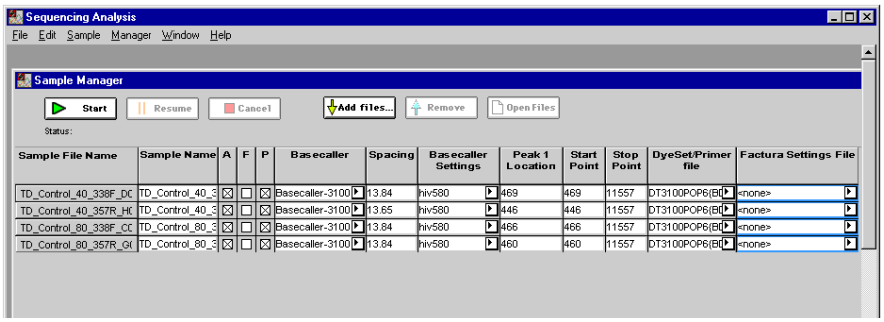


Affichage des données du fichier échantillon

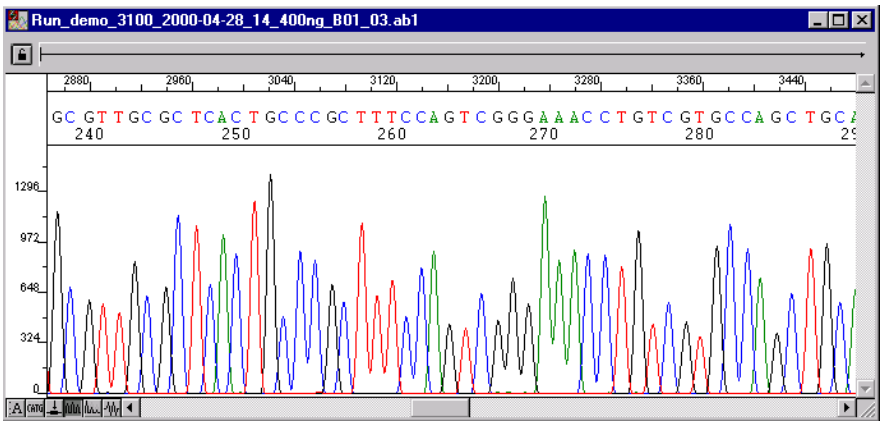
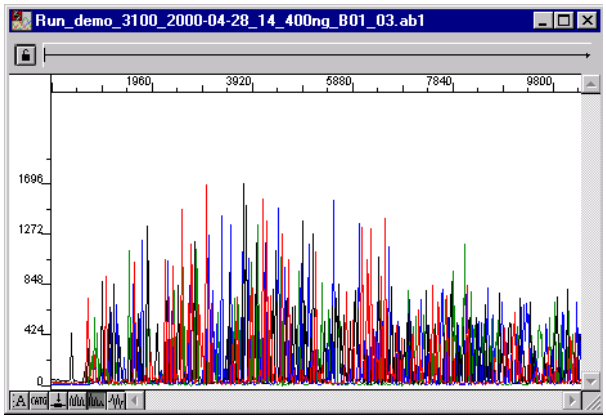
Pour afficher les données du fichier échantillon :

Etape	Action
1	Lancer l'analyse du séquençage. L'utilisateur peut placer une icône de raccourci pour l'analyse du séquençage sur le menu **Démarrer**. Sinon, le programme d'analyse du séquençage (SeqA.exe) réside dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\SeqAnal\Bin Il est parfois utile d'agrandir la fenêtre **Sample Manager** (Gestionnaire d'échantillons). Utiliser pour cela le bouton d'agrandissement ( ) dans le coin supérieur droit de la fenêtre. 
2	Dans le menu **Sample Manager** (Gestionnaire d'échantillons), cliquer sur **Add Files** (Ajouter des fichiers) pour ouvrir la boîte de dialogue **Add Sample Files** (Ajouter des fichiers échantillon).

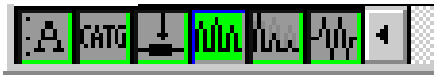
Pour afficher les données du fichier échantillon : *(suite)*

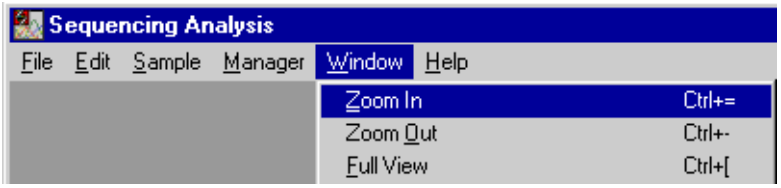
Etape	Action
3	Sélectionner les fichiers à ajouter dans la fenêtre **Sample Manager** (Gestionnaire d'échantillons). a. Dans le panneau supérieur, identifier et ouvrir le dossier qui contient les fichiers à ajouter. b. Cliquer deux fois sur les noms des fichiers pour les ajouter dans la boîte **File name** (Nom de fichier). c. Utiliser les boutons **Add All** (Tout ajouter), **Remove** (Supprimer) ou **Remove All** (Tout supprimer) pour indiquer tous les fichiers voulus dans la zone de liste **File Name** (Nom de fichier). Cette liste contient les fichiers qui seront ajoutés au Gestionnaire d'échantillons. 
4	Lorsque tous les fichiers voulus sont dans la liste **File Name**, cliquer sur le bouton **Finish** (Terminer) pour refermer la boîte de dialogue **Add Sample Files**. Les fichiers échantillon sont ajoutés dans la fenêtre **Sample Manager** (Gestionnaire d'échantillons). **Remarque** Cette fenêtre n'affiche que les 20 premiers caractères du nom du fichier échantillon. 

Pour afficher les données du fichier échantillon : *(suite)*

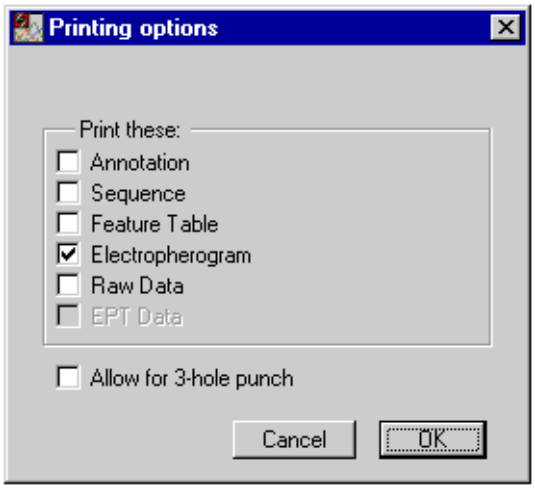
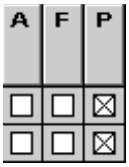
Etape	Action
5	Double-cliquer sur le nom du fichier échantillon pour ouvrir celui-ci et afficher son contenu. (Une autre solution consiste à ouvrir plusieurs fichiers échantillon à la fois en les sélectionnant dans la fenêtre **Sample Manager** et à cliquer sur le bouton **Open Files**.) Si le fichier échantillon a été analysé, il s'ouvre en faisant apparaître l'électrophérogramme.  Si le fichier échantillon n'a pas été analysé, il s'ouvre en faisant apparaître les données brutes. Pour plus de détails sur l'analyse des données, se reporter à la section « Analyse ou réanalyse des données » à la page 3-11. 

Pour afficher les données du fichier échantillon : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>6</td><td>Utiliser les boutons dans le coin inférieur gauche de la fenêtre pour modifier la présentation de l’affichage.
 
① ② ③ ④ ⑤ ⑥

<table>
<tr><th>Bouton</th><th>Fenêtre</th><th>Description</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Annotation</td><td>Récapitulatif de l’échantillon et de la série.</td></tr>
<tr><td>2</td><td>Séquence</td><td>Le texte de la séquence nucléotidique (bases).</td></tr>
<tr><td>3</td><td>Fonction</td><td>Fonctions ajoutées par le traitement Factura™.</td></tr>
<tr><td>4</td><td>Electrophéro-gramme</td><td>Données analysées en couleur avec les pics représentant les bases. (Cette vue n’est pas disponible si les données n’ont pas été analysées.)</td></tr>
<tr><td>5</td><td>Données brutes</td><td>Traitées par la matrice multicomposante, mais sans correction du niveau de base ou de la mobilité. (Si le fichier échantillon n’a pas été analysé, ceci est la vue par défaut.)</td></tr>
<tr><td>6</td><td>EPT</td><td>Tracés sur la tension, la température, le courant et la puissance laser. (Cette zone est vierge si les données EPT ne sont pas disponibles).</td></tr>
</table>
</td></tr>
<tr><td>7</td><td>Dans les vues d’électrophérogramme, des données brutes ou EPT, utiliser les commandes du menu Window (Fenêtre) pour effectuer des zooms avant ou arrière.
 
</td></tr>
</table>

Pour afficher les données du fichier échantillon : *(suite)*

Etape	Action
8	Pour imprimer le fichier échantillon : a. Dans le menu **File**, choisir **Print** (Imprimer) pour ouvrir la boîte de dialogue **Printing Options** (Options d'impression). b. Vérifier les présentations à imprimer. c. Cliquer sur **OK**.  Une autre solution consiste à imprimer plusieurs fichiers échantillon en même temps en cochant la case d'impression qui leur est associée et en cliquant sur le bouton **Start** (Démarrer). 

Analyse ou réanalyse des données

Introduction

Quand faut-il analyser les données avec le logiciel d'analyse du séquençage

Le fichier échantillon ne contiendra pas de données analysées si :

- aucun module d'analyse n'est spécifié lors de la configuration de l'enregistrement de plaque. (Voir étape 6 à la page 2-17.)
- la case AutoAnalysis On (Analyse automatique active) n'est pas cochée sur la boîte de dialogue des préférences. (Voir à la page 2-6.)

Si le fichier échantillon ne contient pas de données analysées, il doit être analysé selon la procédure suivante.

Quand faut-il réanalyser les données avec le logiciel d'analyse du séquençage

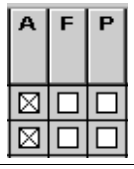
Les paramètres d'analyse utilisés par l'Analyseur automatique sont déterminés par les fichiers du module d'analyse de séquençage. (Ces fichiers de module ont l'extension .saz.)

L'opérateur doit réanalyser les fichiers échantillon à l'aide du logiciel d'analyse du séquençage lorsqu'il :

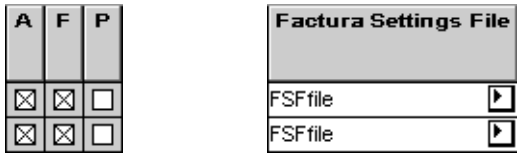
- a choisi le mauvais fichier de module d'analyse lors de l'enregistrement de la plaque. (Voir étape 6 à la page 2-17.)
- souhaite constater l'effet des modifications des paramètres d'analyse sur ses données.

Analyse ou réanalyse des fichiers échantillon

Pour analyser ou réanalyser les fichiers échantillon :

Etape	Action
1	Ajouter les fichiers à analyser dans la fenêtre **Sample Manager** (Gestionnaire d'échantillons). **Remarque** Se reporter aux étapes 1 à 4 pages 3-6 et 3-7 pour ajouter des fichiers dans la fenêtre **Sample Manager**.
2	Cochez la case **A** pour tous les fichiers échantillon à analyser. **Remarque** Appuyer sur CTRL+D, la commande de remplissage, afin de compléter une colonne pour tous les fichiers échantillon. 

Pour analyser ou réanalyser les fichiers échantillon : *(suite)*

Etape	Action
3	Pour appliquer le traitement Factura au fichier échantillon, cocher la case **F** et sélectionner un fichier approprié sur la liste **Factura Settings File** (Fichier des paramètres Factura).  Pour plus de détails sur le traitement Factura, se reporter au *Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse du séquençage d'ADN ABI PRISM.*
4	Cocher la case **P** uniquement si chaque fichier échantillon doit être imprimé immédiatement après l'analyse. (Cela n'est pas recommandé). Si l'opérateur coche la case **P**, il doit s'assurer que les préférences d'impression sont correctement réglées. Pour afficher les préférences d'impression, aller à l'option **Preferences** sous le menu **Edit** (Edition), et sélectionner **Printing Preferences** (Préférences d'impression).
5	Examiner les paramètres définis dans la fenêtre **Sample Manager** (Gestionnaire d'échantillons). Se reporter au tableau « Paramètres d'analyse » ci-dessous pour plus de détails.
6	Vérifier que le fichier **DyeSet/Primer** (Jeu de fluorophores/Amorce) correspond à la chimie de séquençage utilisée. Le fichier **DyeSet/Primer** est le même que le fichier de mobilité sélectionné dans l'étape 3 à la page 2-15.
7	Cliquer sur le bouton **Start** (Démarrer).
8	Examiner les données analysées. Modifier les paramètres d'analyse et recommencer l'analyse si nécessaire.

Paramètres d'analyse sur la fenêtre du Gestionnaire d'échantillons

Paramètres d'analyse

Article	Description
Basecaller	Il y a deux options d'assignation des bases : ♦ Basecaller-3100.bcp (séquençage standard, plage d'espacement par défaut 10–15) ♦ Basecaller-3100RRv2.bcp (séquençage en lecture rapide, espacement par défaut 15–22)
Spacing	L'espacement doit correspondre à l'assignation de bases utilisée. Les valeurs d'espacement sont normalement calculées automatiquement, mais l'opérateur peut remplacer les valeurs courantes en saisissant une nouvelle valeur dans la zone Spacing (Espacement).

Paramètres d’analyse *(suite)*

Article	Description
Basecaller Settings	Les paramètres d'assignation des bases permettent d’arrêter l’analyse avant que le point d’arrêt défini sur le Gestionnaire d’échantillon ne soit atteint. Pour utiliser ces paramètres, ouvrir la page Basecaller Settings Preference (Préférence des paramètres d'assignation des bases) en allant vers l’option Preferences du menu Edit et en sélectionnant Basecaller Settings. (Aucune valeur seuil n’est appliquée par défaut.)
Peak 1 Location	Ce point marque la position du premier pic de base dans les données. Pour déterminer l’emplacement optimal du pic 1, se reporter au *Manuel d’utilisation du logiciel d’analyse du séquençage d’ADN ABI PRISM.*
Start Point	C’est à partir de cette valeur de balayage que l’analyse commence. Par défaut, elle correspond à la position du pic 1, mais l’opérateur peut entrer une valeur plus grande.
Stop Point	C’est à cette valeur de balayage que l’analyse s’arrête. Par défaut, c’est le dernier point du fichier échantillon, mais l’opérateur peut entrer une valeur plus petite s’il le souhaite.
DyeSet/Primer File	Le fichier de jeu de fluorophores/amorce est le fichier de mobilité utilisé pendant l’analyse des données.
Factura Settings File	Les paramètres du traitement Factura sont contenus dans ce fichier.

Calibrations spatiale et spectrale 4

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
Exécution d'une calibration spatiale	4-2
Exécution d'une calibration spectrale	4-6

Exécution d’une calibration spatiale

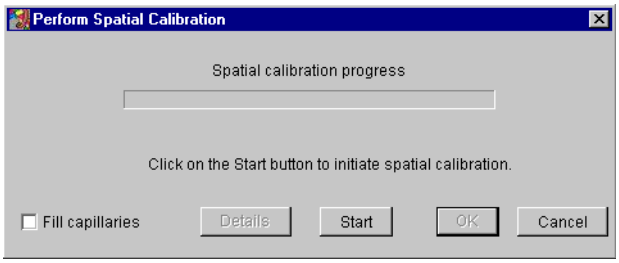
Quand doit-on effectuer une calibration spatiale

La calibration spatiale doit être effectuée à chaque :

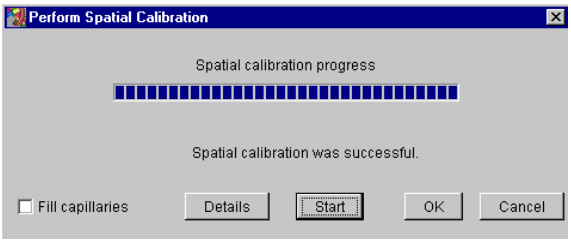
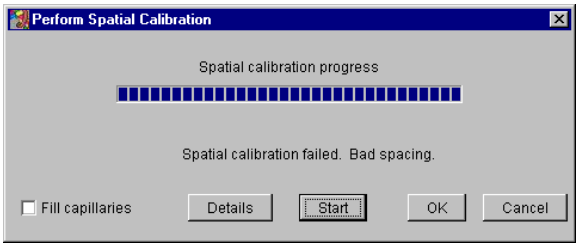
- installation ou remplacement de barrette capillaire.
- retrait temporaire de la barrette capillaire du bloc de détection.

Exécution d’une calibration spatiale

Pour effectuer une calibration spatiale :

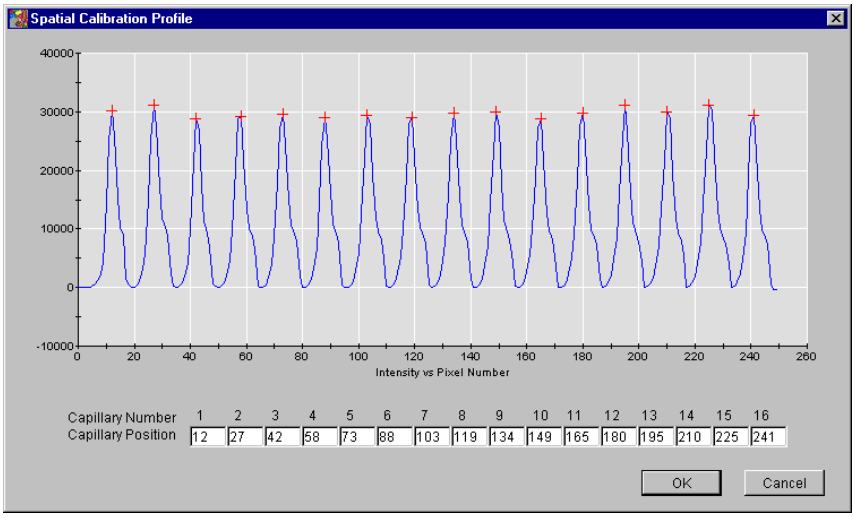
Etape	Action
1	A partir du menu **Tools** (Outils), sélectionner **Perform Spatial Calibration** (Exécuter une calibration spatiale). La boîte de dialogue suivante apparaît : 
2	Sélectionner la case à cocher **Fill capillaries** (Remplir les capillaires) si : - les capillaires n’ont pas de polymère (*c.-à-d.* une nouvelle barrette capillaire), ou - le polymère des capillaires a été utilisé lors d’une série. **Remarque** L’opérateur n’a pas besoin de remplir les capillaires lors de chaque calibration spatiale.
3	Cliquer sur **Start** (Démarrer). La calibration dure environ : - 2 mn sans remplissage des capillaires - 8,5 mn avec remplissage des capillaires

Pour effectuer une calibration spatiale : *(suite)*

Etape	Action	
4	**Si la calibration...**	**Procédure...**
	a réussi	la boîte de dialogue suivante apparaît :  a. Cliquer sur **Details** (Détails) pour afficher la fenêtre **Spatial Calibration Profile** (Profil de calibration spatiale). b. Passer à la section « Affichage des résultats corrects et enregistrement des données » ci-dessous.
	a échoué	le message d'erreur qui apparaît explique les raisons de l'échec.  a. Cliquer sur **Details** (Détails) pour afficher la fenêtre **Spatial Calibration Profile** (Profil de calibration spatiale). b. Effectuer l'une des opérations suivantes : – Cliquer sur **Cancel** (Annuler), puis sur **Start** pour répéter la calibration. – Prendre les mesures correctives décrites page 4-5.

Affichage des résultats corrects et enregistrement des données

Pour afficher les résultats de la calibration spatiale et enregistrer les données :

Etape	Action
1	Evaluer le profil de calibration spatiale. **Remarque** Pour plus de détails sur l'évaluation du profil, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM* (Réf. nº 4315834).  Une fois l'opération terminée, cliquer sur **OK** pour refermer la case **Spatial Calibration Profile**.
2	<table><tr><th>Si le profil de calibration spatiale est...</th><th>Procédure...</th></tr><tr><td>satisfaisant</td><td>Passer à l'étape 3.</td></tr><tr><td>non satisfaisant</td><td>a. Cliquer sur **Cancel** pour refermer la zone **Details**, et cliquer sur **Start** pour répéter la calibration, ou b. Repositionner une ou plusieurs croix rouges. Pour déplacer une croix, modifier la valeur de la case de positionnement capillaire, puis cliquer en dehors de cette case. Si la calibration fournit toujours des résultats non satisfaisants, lire la section « En cas d'échec de la calibration » à la page 4-5.</td></tr></table>
3	Cliquer sur **OK** pour refermer la fenêtre **Perform Spatial Calibration** (Exécuter la calibration spatiale). La boîte de dialogue **Question** s'ouvre.

Pour afficher les résultats de la calibration spatiale et enregistrer les données : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>4</td><td>
<table>
<tr><th>Pour...</th><th>Procédure...</th></tr>
<tr><td>enregistrer ces données de calibration dans la base de données du logiciel de collecte 3100</td><td>Cliquer sur Yes (Oui).</td></tr>
<tr><td>supprimer ces données et utiliser celles d’une série précédente</td><td>a. Cliquer sur No (Non).
b. contourner la carte de calibration spatiale actuelle. Se reporter au Manuel d’utilisation de l’analyseur génétique 3100 ABI PRISM.</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

En cas d’échec de la calibration

En cas d’échec de la calibration, ou si la calibration a réussi mais n’a pas un profil satisfaisant, l’opérateur peut essayer une ou plusieurs des actions correctives suivantes.

- Répéter la calibration.
- Remplir les capillaires de polymère, puis répéter la calibration.
- Nettoyer la fenêtre de barrette, puis répéter la calibration.
- Repositionner la fenêtre de barrette dans la cellule de détection, puis répéter la calibration.

Exécution d'une calibration spectrale

Introduction

L'exécution d'une calibration spectrale comprend trois grands volets :

- définition des normes
- lancement de la calibration spectrale
- vérification de la calibration spectrale

Remarque Cette section explique la calibration spectrale pour le jeu de fluorophores E en utilisant le jeu de standards de matrice DS-01. Pour obtenir des détails sur la calibration spectrale pour un autre jeu de fluorophores, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM.*

La calibration spectrale permet de créer une matrice afin de corriger le chevauchement spectral des émissions de fluorescence des fluorophores. L'application de cette matrice aux données brutes est le processus multicomposant. Pour une explication plus détaillée de la calibration spectrale, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*.

Quand faut-il exécuter une calibration spectrale

Une calibration spectrale doit être effectué :

- chaque fois qu'un nouveau jeu de fluorophores est utilisé sur l'instrument
- après le réalignement du laser ou de la caméra CCD par l'ingénieur de service
- quand on constate une diminution de la séparation spectrale (pics vers le haut et/ou vers le bas apparaissant dans les autres couleurs sous un pic donné : par exemple, un pic de vert apparaissant systématiquement sous un pic bleu avec le même ratio entre eux)

Préparation du standard de matrice pour les matrices du jeu de fluorophores E

Pour préparer les standards de matrice pour les matrices du jeu de fluorophores E :

Etape	Action
1	Décongeler et homogénéiser le tube de standards de matrice DS-01 (Réf. nº 4315974).
2	Centrifuger brièvement les tubes.
3	Préparer le jeu de standards de matrice DS-01 pour le jeu de fluorophores E en combinant dans un tube de microcentrifugeuse de 1,5-ml les éléments suivants :
4	Homogénéiser au vortex.
5	Centrifuger le mélange.

Réactif	Volume (µl)
Jeu de standards de matrice DS-01 (dROX, dTAMRA, dR6G, dR110)	5
Formamide Hi-Di™ (Réf. nº 4311320)	195
Volume final	**200**

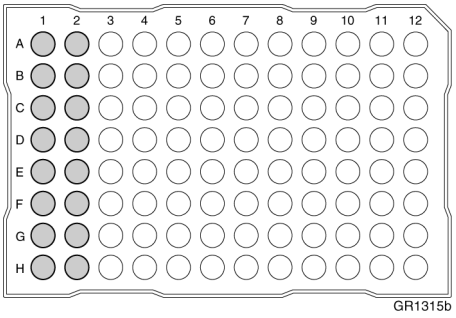
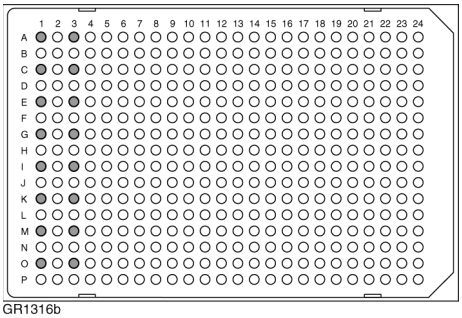
⚠ AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. Le **formamide** est dangereux s'il est absorbé par la peau ; il peut également provoquer une irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Il risque d'endommager le système nerveux central et les systèmes de reproduction féminin et masculin, et pose un risque possible de malformation congénitale. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés.

Pour préparer les standards de matrice pour les matrices du jeu de fluorophores E : *(suite)*

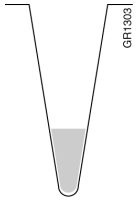
Etape	Action
6	Chauffer le tube de standard à 95 °C pendant 3 à 5 mn pour dénaturer l'ADN.
7	Placer immédiatement les tubes sur la glace pendant 2 mn.

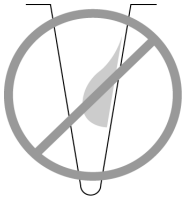
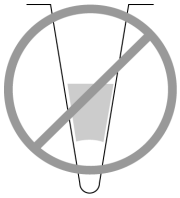
Chargement des standards

Pour charger les standards :

Etape	Action
1	Distribuer 10 µl de standard de matrice dénaturé dans une : ♦ plaque à 96 puits, des puits A1 à H2, comme indiqué  GR1315b ♦ plaque à 384 puits, dans les puits A1, A3, C1, C3, E1, E3, etc. comme indiqué  GR1316b

Pour charger les standards : *(suite)*

<table>
<tr><th>Etape</th><th>Action</th></tr>
<tr><td>2</td><td>Centrifuger la plaque de façon à positionner chaque standard au fond de son puits. Les échantillons doivent :
<table>
<tr><th>avoir cet aspect...</th><th>ne pas avoir cet aspect...</th><th>ne pas avoir cet aspect...</th></tr>
<tr><td> 

L’échantillon est positionné correctement au fonds du puits.</td><td> 
L’échantillon repose sur la paroi latérale car la plaque n’a pas été centrifugée.</td><td> 
Une bulle d’air se trouve au fond du puits car la plaque n’a pas été :
♦ centrifugée avec une force suffisante, ou
♦ centrifugée assez longtemps</td></tr>
</table></td></tr>
</table>

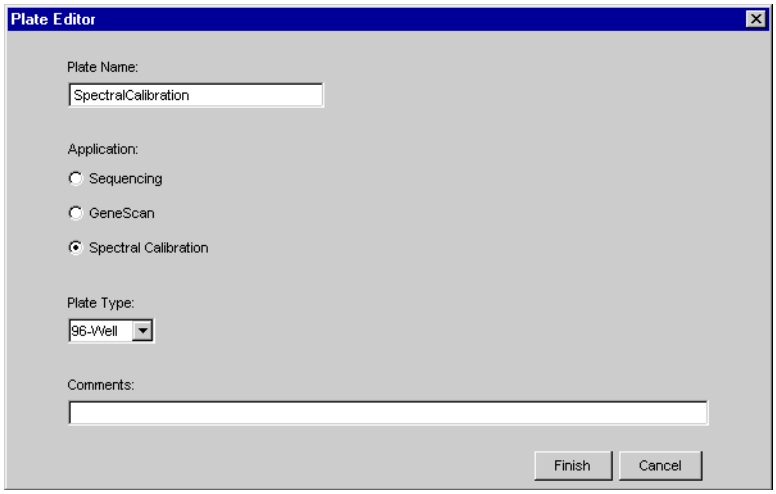
Préparation de la plaque et de l’instrument

Suivre les instructions des pages 2-7 à 2-12 pour :

- ♦ assembler les plaques.
- ♦ vérifier et remplir les liquides sur l’instrument.
- ♦ placer la plaque sur le passeur d'échantillons.

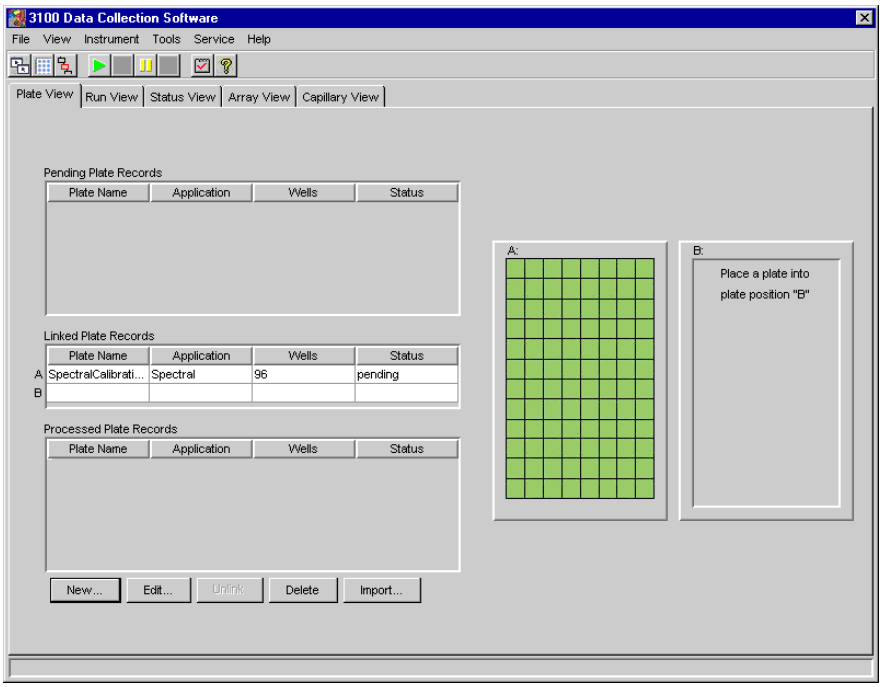
Création d'un enregistrement de plaque

Pour créer un enregistrement de plaque destiné aux standards de matrice dénaturés :

Etape	Action
1	Sur la page **Plate View** (Fenêtre de plaque) du logiciel de collecte des données 3100, cliquer sur **New** (Nouveau). La boîte de dialogue **Plate Editor** de plaque s'ouvre.
2	Dans la boîte de dialogue **Plate Editor** : a. Nommer la plaque. b. Sélectionner **Spectral Calibration** (Etalonnage spectral). c. Vérifier que le type de plaque est approprié.  d. Cliquer sur **Finish** (Terminer). Le tableur Plate Editor s'ouvre.
3	Remplir la feuille Plate Editor pour les puits qui ont été chargés : a. Taper le nom des échantillons. b. Sélectionner **Dye Set E** (Jeu de fluorophores E). c. Sélectionner le module d'électrophorèse en fonction de la longueur de barrette capillaire : – 36 cm : **Spect36_POP6DefaultModule** – 50 cm : **Spect50_POP6DefaultModule** d. Sélectionner le paramètre spectral **MtxStd{Sequencing-SetE}.par**. e. Cliquer sur **OK**. **IMPORTANT** S'assurer que le fichier de paramétrage spectral sélectionné convient au type de fluorophores analysé. La sélection d'un fichier de paramétrage incorrect entraîne l'échec de la calibration spectrale. Un enregistrement de plaque pour la phase de calibration est ainsi créé dans la base de données. Après quelques secondes, l'entrée de l'enregistrement de plaque apparaît dans le tableau **Pending Plate Records** (Enregistrements de plaque provisoires) de la page **Plate Setup** (Configuration de plaque).

Liaison de la plaque

Pour lier l'enregistrement à la plaque :

Etape	Action
1	Dans le tableau **Pending Plate Records** (Enregistrements de plaque provisoires), sélectionner l'enregistrement de plaque qui vient d'être créé.
2	Cliquer sur le graphique correspondant à la plaque sur le passeur d'échantillons.  **Remarque** Une fois la plaque liée : – le graphique de plaque passe du jaune au vert. – L'enregistrement de plaque passe du tableau **Pending Plate Records** au tableau des **Linked Plate Records** (Enregistrements des plaques liées). (Cela prend environ 30 s.) – Le bouton **Run Instrument** (Lancer l'instrument) est activé sur la barre d'outils, ce qui signifie que l'instrument est prêt à fonctionner.

3100 Data Collection Software
File View Instrument Tools Service Help
Plate View Run View Status View Array View Capillary View
Pending Plate Records
Plate Name Application Wells Status
Linked Plate Records
Plate Name Application Wells Status
A SpectralCalibrati... Spectral 96 pending
B
Processed Plate Records
Plate Name Application Wells Status
New... Edit... Unlink Delete Import...
A:
B:
Place a plate into plate position "B"

Lancement de la calibration

Pour lancer la calibration :

Etape	Action
1	Pour examiner le calendrier d'exécution avant le début de la série, cliquer sur l'onglet **Run View** (Fenêtre des séries).
2	Cliquer sur le bouton **Run Instrument** sur la barre d'outils pour lancer l'analyse.

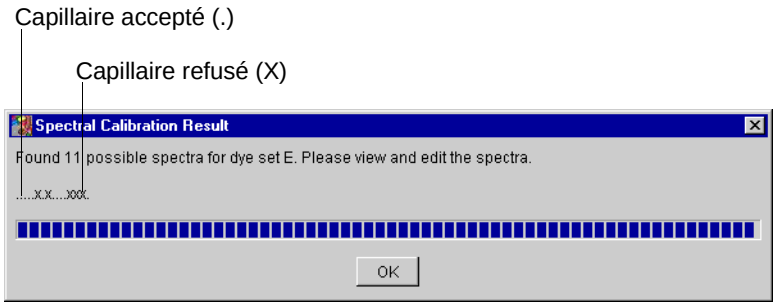
Temps d'exécution

Le tableau suivant indique les temps d'exécution pour la calibration spectrale :

Longueur de barrette capillaire (cm)	Temps d'exécution approximatif (mn)
36	40
50	65

Zone des résultats de la calibration spectrale

A la fin du passage, pendant l'analyse des données, la zone Spectral Calibration Result (Résultat de la calibration spectrale) s'ouvre pour indiquer les capillaires acceptés et les capillaires refusés.


Capillaire accepté (.)
Capillaire refusé (X)
Spectral Calibration Result
Found 11 possible spectra for dye set E. Please view and edit the spectra.
....x.x....xxx.
OK

Pour accepter l'analyse de calibration terminée :

Etape	Action
1	Dans la zone **Spectral Calibration Result** (Résultat de calibration spectrale), cliquer sur **OK**.

IMPORTANT Examiner et évaluer le profil de calibration spectrale de chaque capillaire, même si la zone des résultats de la calibration spectrale indiquait qu'ils étaient acceptés. Se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM.*

En cas d'échec du capillaire

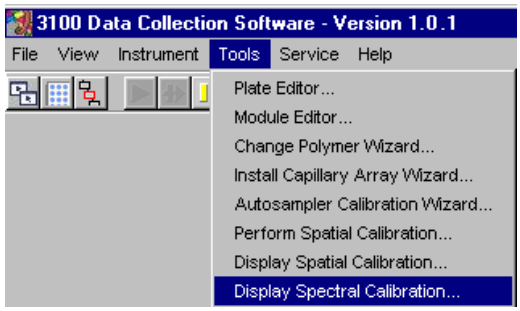
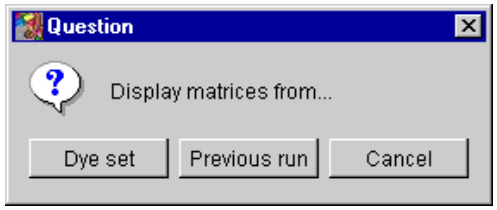
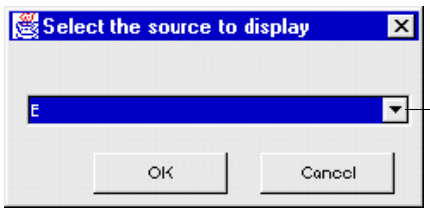
En cas d'échec, le profil spectral du capillaire accepté le plus proche sur sa gauche est automatiquement attribué au capillaire. S'il n'y a pas de capillaire accepté sur sa gauche, le système lui attribue le profil du capillaire accepté le plus proche sur sa droite. Ces capillaires sont marqués en jaune et non en vert dans la fenêtre de barrette (*par ex.* page 3-3).

IMPORTANT Pour les applications où les pics vers le haut et vers le bas entraînent des erreurs critiques, nous recommandons de refaire la calibration spectrale et d'utiliser une analyse spectrale unique par capillaire.

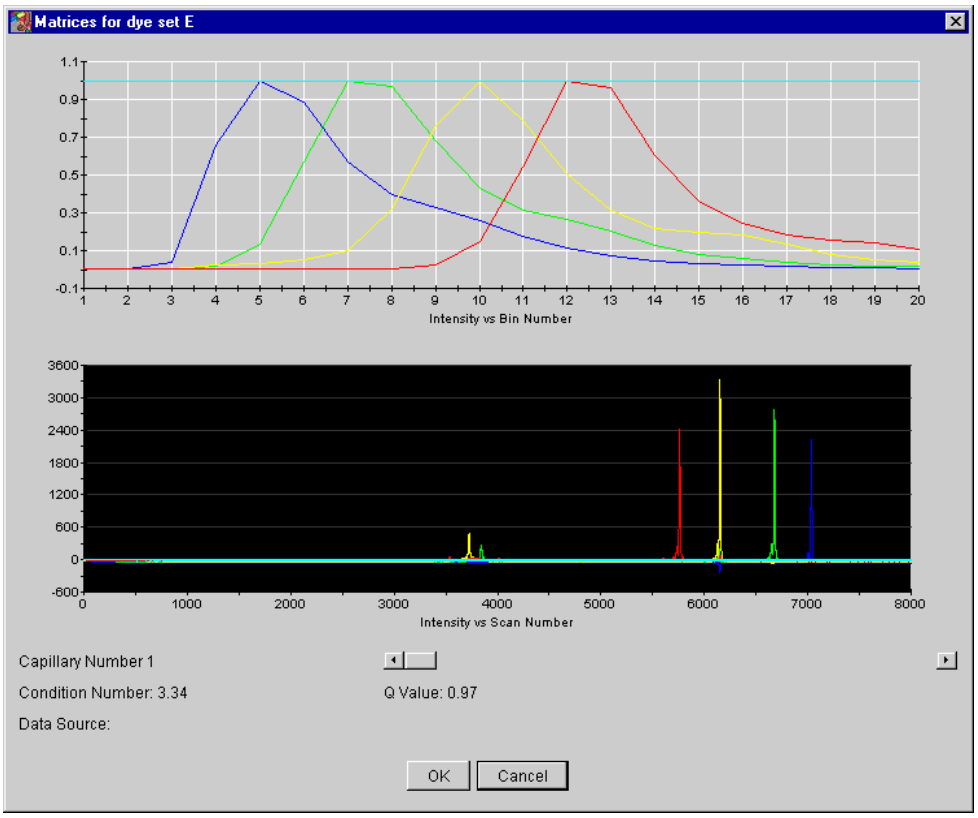
Examen d'un profil de calibration spectrale pour le jeu de fluorophores E

Après avoir effectué la calibration spectrale, il est de bonne pratique de vérifier la qualité des données spectrales pour chaque capillaire.

Pour afficher le profil de calibration spectrale mémorisé pour un jeu de fluorophores :

Etape	Action
1	A partir du menu **Tools** (Outils), sélectionner **Display Spectral Calibration** (Afficher la calibration spectrale).  La boîte de dialogue **Question** s'ouvre. 
2	Cliquer sur **Dye Set** (Jeu de fluorophores). Cela ouvre la boîte de dialogue **Select the source to display** (Choisir la source à afficher). 

Pour afficher le profil de calibration spectrale mémorisé pour un jeu de fluorophores : *(suite)*

Etape	Action
3	Sélectionner le jeu de fluorophores **E** et cliquer sur **OK**. La fenêtre **Matrices for dye set E** (Matrice du jeu de fluorophores E) s'ouvre.
	
4	Utiliser les boutons fléchés ou le coulisseau pour examiner les données de chaque capillaire. Pour qu'une calibration soit considérée de bonne qualité, la calibration de chaque capillaire doit avoir : ♦ une valeur Q supérieure à 0,95 ♦ un numéro de condition de 3 à 5
5	Cliquer sur **Cancel** (Annuler) pour refermer la boîte. **Remarque** Le logiciel annule automatiquement les capillaires refusés, mais si un profil particulier ne lui convient pas, l'opérateur peut le remplacer par un profil de son choix. Pour plus de détails à ce sujet, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*.

Entretien de l'instrument 5

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre décrit les mesures à prendre pour l'entretien de l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM.

Section	Voir page
Listes des travaux de maintenance	5-2
Elimination des bulles d'air du bloc polymère supérieur	5-4
Vérification de l'espace disque disponible	5-5
Nettoyage et inspection des seringues	5-7
Retrait des blocs polymère	5-8
Nettoyage des blocs polymère	5-9
Montage du polymère frais sur l'instrument	5-10
Avant d'installer une barrette capillaire précédemment utilisée	5-11
Installation et retrait de la barrette capillaire	5-12
Stockage d'une barrette capillaire	5-13
Arrêt de l'instrument	5-14

Listes des travaux de maintenance

Présentation

Cette section indique la liste des travaux d'entretien courants exigés pour le bon fonctionnement de l'analyseur génétique 3100. Les tâches sont agencées sur la liste en fonction de la fréquence de leur exécution.

Tâches journalières

Effectuer ces tâches au moins une fois par jour.

Tâche de maintenance	Fréquence	Voir...
Vérifier si les bandes de bouchons de réservoir sont bien en place et à plat.	Avant chaque série	—
Vérifier si les ensembles plaques sont correctement montés. **IMPORTANT** Les trous dans le clip de maintien de la plaque doivent s'aligner avec ceux des bandes de bouchons pour ne pas endommager les pointes capillaires.	Avant chaque série	page 2-7
Vérifier si les ensembles plaques sont correctement positionnés sur la platine. Les plaques doivent s'ajuster de façon serrée sur la platine. **IMPORTANT** Ne jamais utiliser de plaques faussées.	Avant chaque série	—
Remplir les réservoirs d'eau et de tampon 1X 3100 sur l'instrument.	Quotidien ou avant chaque série	page 2-9
Vérifier l'absence de bulles dans les canaux des blocs polymère ou dans le bloc polymère et les éliminer le cas échéant.	Quotidien ou avant chaque série	page 5-4
Vérifier le collecteur côté chargement pour s'assurer que les pointes capillaires ne sont ni écrasées ni endommagées.	Quotidien ou avant chaque série	—
Vérifier le niveau de polymère dans la seringue de réserve de polymère pour s'assurer qu'elle contient au moins 1 ml.	Quotidien ou avant chaque série	—
Vérifier le bloc polymère pour s'assurer qu'il s'ajuste solidement sur l'instrument.	Quotidien	—
Nettoyer les surfaces de l'instrument.	Quotidien	—
Vérifier la présence de polymère dans la région du bloc polymère et nettoyer si nécessaire.	Quotidien	—
Vérifier l'absence de fuites autour des seringues et de l'écrou à vis.	Quotidien	—
Vérifier l'espace disponible sur le disque dur. Supprimer les enregistrements de plaque de la base de données de l'instrument et archiver les fichiers échantillon.	Quotidien	page 5-5

Tâches hebdomadaires

Effectuer ces tâches au moins une fois par semaine.

Tâche de maintenance	Fréquence	Voir...
Nettoyer les seringues.	Hebdomadaire ou au besoin	page 5-7
Nettoyer les réservoirs d'eau et de tampon à l'eau chaude.	Hebdomadaire	—
Nettoyer les blocs polymère inférieur et supérieur.	Hebdomadaire	page 5-9
Remplacer le polymère dans les seringues, dans le bloc polymère supérieur et dans la barrette capillaire.	Hebdomadaire ou au besoin	page 5-10
Vérifier les conditions de stockage des barrettes utilisées.	Hebdomadaire	—

Tâches effectuées au besoin

Effectuer ces tâches au besoin.

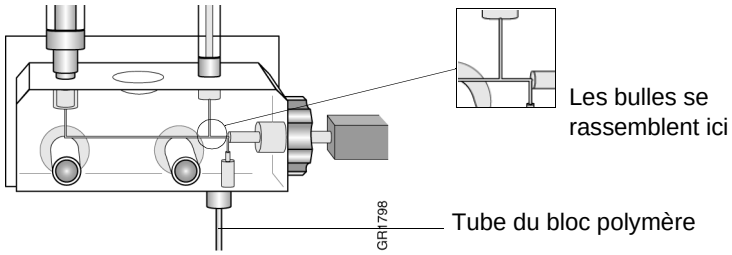
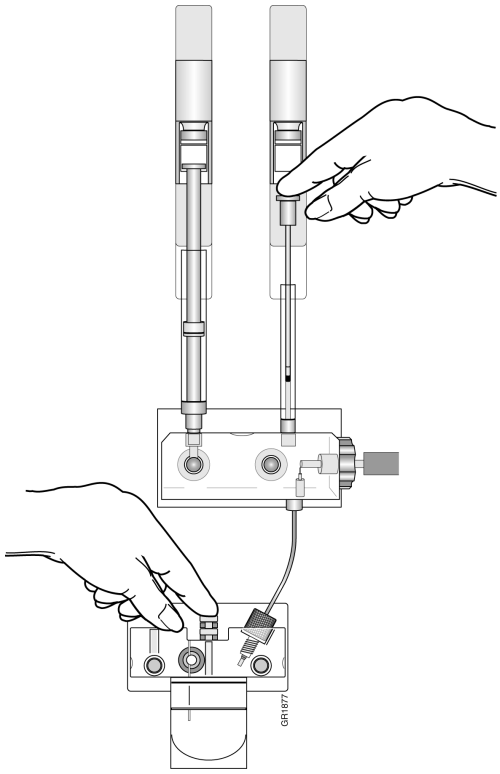
Tâche de maintenance	Fréquence	Voir...
Nettoyer les plateaux perforés.	Au besoin	—
Changer de barrette.	Au besoin	page 5-12
Enlever le polymère des pointes capillaires. Utiliser un chiffon non-pelucheux imbibé d'eau désionisée.	Au besoin	—
Etalonner le passeur d'échantillons.	Très rarement	Manuel d'utilisation

Elimination des bulles d’air du bloc polymère supérieur

Elimination des bulles d’air

Pour plus de details sur l’assistant de changement de polymére, se reporter au *Manuel d’utilisation de l’analyseur génétique ABI PRISM*.

Pour éliminer les bulles d’air du bloc polymère supérieur à l’aide de l’assistant de changement de polymère :

Etape	Action
1	Enfoncer la seringue de réserve de polymère pour expulser les bulles vers la partie inférieure droite du bloc. Enfoncer lentement (ou tapoter) pour minimiser la quantité de polymère utilisée.
2	Appuyer lentement sur la seringue de remplissage de la barrette pour expulser les bulles vers le bas du canal. Les bulles se rassemblent à la jonction des canaux. 
3	a. Maintenir la valve pointeau du tampon anodique et enfoncer simultanément la seringue de remplissage de barrette pour accroître la pression dans les canaux. b. Relâcher la valve pointeau du tampon (tout en appuyant sur la seringue de remplissage) pour expulser les bulles dans le tube du bloc polymère. 
4	Répéter l’étape 3 si nécessaire.

Vérification de l’espace disque disponible

Introduction

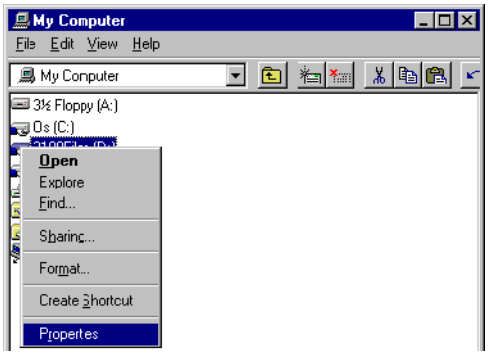
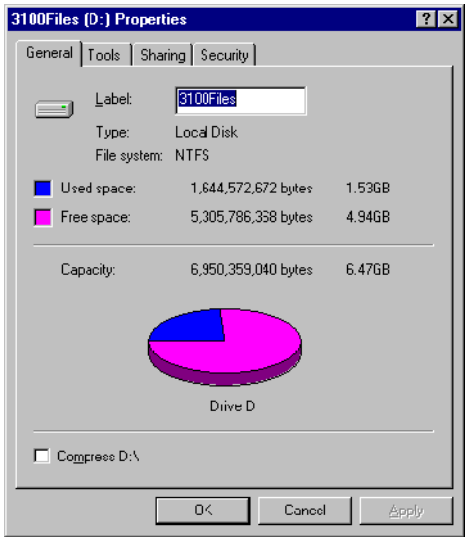
Vérifier chaque semaine l’espace disque disponible pour s’assurer qu’il permettra de stocker les données à créer.

Les procédures suivantes indiquent comment vérifier l’espace disque :

- sur le disque dur (normalement D) pour les fichiers échantillon extraits
- dans la base de données de l’instrument (normalement l’unité E) pour les données brutes

Vérification de l’espace du disque dur

Pour vérifier l’espace disque disponible pour les fichiers échantillon :

Etape	Action
1	Cliquer deux fois sur l’icône **Poste de travail** du bureau pour visualiser les lecteurs.
2	Effectuer un clic droit sur le lecteur D et sélectionner **Propriétés**.  La boîte de dialogue **Propriétés** affiche alors l’espace disponible et occupé. 

Pour vérifier l'espace disque disponible pour les fichiers échantillon : *(suite)*

Etape	Action
3	Evaluer la quantité d'espace libre nécessaire à l'aide des informations ci-dessous. **Type de fichier** / **Espace approximatif requis par fichier (Ko)[a]** Fichier échantillon analysé pour l'analyse du séquençage d'ADN — 250 Fichier échantillon non analysé — 100 a. Les valeurs fournies sont purement estimatives. La taille réelle du fichier dépend du module d'électrophorèse sélectionné.
4	Si l'espace n'est pas suffisant : a. Archiver les fichiers échantillon vers un autre volume. b. Supprimer les fichiers originaux du lecteur.

Vérification de l'espace de base de données

Remarque La base de données de l'instrument passe automatiquement de 2 à 9 Go, selon la quantité de données à stocker.

Pour vérifier l'espace de base de données :

Etape	Action
1	Exécuter l'utilitaire Diskspace. Pour plus de détails, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM* (Réf. nº 4315834).
2	Si l'espace utilisé est supérieur à 8 Go, supprimer une partie ou la totalité des enregistrements mémorisés et des blocs de données. Pour plus de détails, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM*.

Nettoyage et inspection des seringues

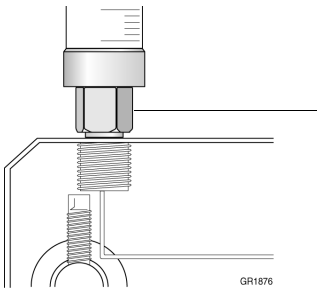
Quand faut-il nettoyer les seringues

Nettoyer à fond les seringues :

- chaque fois qu'elles sont retirées de l'instrument, ou au moins une fois par semaine
- à chaque changement du polymère, notamment lorsqu'on passe à un nouveau type ou lot de polymère

Retrait des seringues

Pour retirer les seringues de l'instrument :

Etape	Action
1	Saisir la seringue de réserve de polymère au dessus du raccord ou à la base, et tourner la seringue dans le sens anti-horaire.  **IMPORTANT** Faites attention de ne pas enlever le raccord. Plusieurs anneaux et clapets anti-retours risquent de se démonter si le raccord est enlevé.
2	Saisir la seringue de remplissage de barrette et tourner la seringue dans le sens anti-horaire.
3	Jeter le polymère restant selon les dispositions correctes.
4	Passer à la section « Nettoyage des seringues » ci-dessous.

Nettoyage des seringues

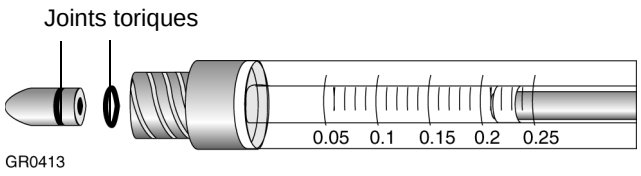
Pour nettoyer une seringue :

Etape	Action
1	Nettoyer la seringue à fond en rinçant l'intérieur et l'extérieur du cylindre de la seringue et sa pointe à l'eau chaude. Pour plus de details sur le nettoyage des seringues, se reporter au *Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique ABI PRISM*. **⚠ ATTENTION** Ne pas utiliser d'eau très chaude. Cela risquerait de déformer la pointe de seringue en téflon. **IMPORTANT** S'assurer que les seringues ne contiennent plus de polymère séché.
2	Rincer le cylindre et la pointe de la seringue à l'eau désionisée.
3	Sécher à l'air comprimé.
4	Remonter la seringue avant de l'inspecter conformément à la page 5-8.

Inspection d'une seringue

IMPORTANT Après avoir nettoyé la seringue, toujours vérifier la présence des joints toriques pour éviter les fuites pendant l'analyse.

Pour inspecter la seringue :

Etape	Action
1	Inspecter la présence des deux joints toriques dans la seringue (Réf. nº 221102) : une derrière la bague et l'autre autour. 
2	Vérifier que la bague est solidement placée dans l'extrémité de la seringue.

Retrait des blocs polymère

Retrait du bloc polymère supérieur

Pour retirer le bloc polymère supérieur :

Etape	Action
1	Retirer les seringues comme cela est décrit en page 5-7.
2	Débrancher la barrette capillaire du bloc polymère : a. Appuyer sur le bouton du plateau. b. Ouvrir l'instrument, le four et les portes du bloc de détection. c. Desserrer l'écrou de la barrette capillaire. d. Extraire en partie le bloc polymère. e. Retirer la cellule du bloc de détection. f. Retirer le manchon de la barrette capillaire du bloc polymère. g. Si la barrette capillaire doit être réutilisée, elle doit être rangée conformément aux instructions en page 5-13.
3	Débrancher le bloc polymère inférieur en dévissant le raccord tubulaire sur la face inférieure droite du bloc polymère supérieur.
4	Saisir le bloc polymère supérieur à deux mains et l'extraire directement en tirant vers soi.
5	Le bloc polymère supérieur chevauche deux tiges d'acier et s'extrait facilement en coulissant dès qu'un ressort dépasse un certain point de contrôle.

Retrait du bloc polymère inférieur

Pour retirer le bloc polymère inférieur :

Etape	Action
1	Retirer le réservoir anodique et mettre le tampon au rebut de façon appropriée.
2	Saisir le bloc polymère inférieur et l'extraire directement vers soi.
3	Débrancher le raccord tubulaire du bloc polymère.

Nettoyage des blocs polymère

Quand faut-il nettoyer les blocs polymère

Nettoyer les blocs polymère inférieur et supérieur :

- avant de changer le polymère sur l'instrument
- lorsque le polymère est resté sur l'instrument plus d'une semaine

Remarque Le polymère âgé de plus d'une semaine provoque une augmentation de courant transitoire pendant l'électrophorèse due à la décomposition uréique.

Nettoyage des blocs polymère

IMPORTANT Ne pas exposer les blocs polymère aux solvants organiques.

Pour laver les blocs polymère inférieur et supérieur :

Etape	Action
1	Retirer les blocs polymère de l'instrument conformément aux instructions en page 5-8.
2	Utiliser de l'eau courante ou une bouteille à gicleur pour bien rincer le bloc polymère supérieur à l'eau chaude.
3	Inspecter visuellement les canaux pour détecter les traces de résidu blanc (polymère séché). Continuer le lavage des canaux jusqu'à l'élimination totale des résidus.
4	Rincer le bloc et ses canaux à l'eau désionisée.
5	Expulser l'eau résiduelle du bloc polymère et de ses raccords pour s'assurer que le polymère courant n'est pas dilué. Forcer le passage de l'air dans les canaux en utilisant de l'air comprimé en bombe, jusqu'à ce que les canaux soient secs.

Nettoyage du réservoir anodique et de la tubulure de polymère

Pour laver le réservoir anodique et la tubulure de polymère :

Etape	Action
1	Utiliser une bouteille à gicleur pour chasser l'eau désionisée dans la tubulure du bloc polymère.
2	Laver le réservoir anodique à l'eau chaude et le rincer à l'eau désionisée.
3	Sécher les deux composants à l'air comprimé.

Montage du polymère frais sur l'instrument

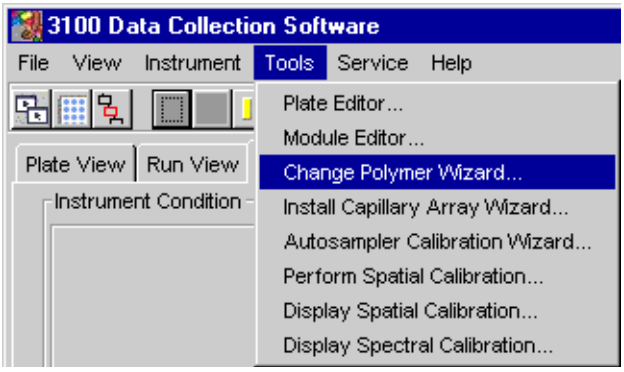
Quand faut-il changer le polymère

Nous recommandons de changer le polymère chaque semaine. Le polymère a une durée de vie d'environ 7 jours à 25°C

Ajout ou changement du polymère

⚠ ATTENTION DANGER CHIMIQUE. Le polymère **POP** risque de provoquer l'irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés. Réservé à la recherche et au développement.

Pour placer du polymère frais sur l'instrument :

Etape	Action
1	A partir du menu **Tools** (Outils), sélectionner **Change Polymer Wizard** (Assistant de changement du polymère). 
2	Un message de mise en garde s'ouvre. Si la longueur de barrette actuellement sur l'instrument est égale à la longueur citée dans le message de mise en garde, cliquer sur **OK** pour lancer l'assistant de changement du polymère.
3	Respecter les directives de l'assistant pour placer le polymère frais sur l'instrument.

Avant d’installer une barrette capillaire précédemment utilisée

Introduction

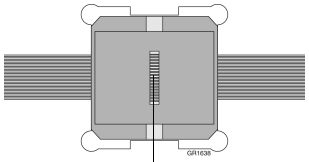
Avant de réinstaller une barrette capillaire, il est recommandé de :

- nettoyer la face avant de la cellule de détection
- vérifier que la barre cathodique est sèche

Nettoyage de la cellule de détection

Cette procédure est inutile pour les nouvelles barrettes, sauf si la cellule de détection a été touchée accidentellement.

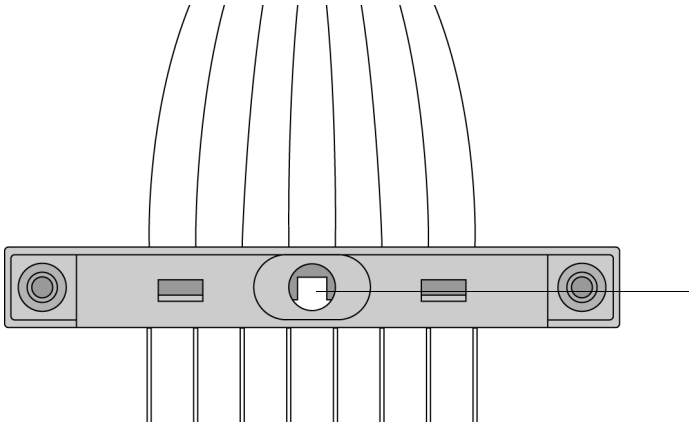
Pour nettoyer la cellule de détection :

Etape	Action
1	Placer une goutte de méthanol sur la face avant de la cellule de détection.  Face avant de la cellule de détection **⚠ AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE**. Le **méthanol** est un gaz et un liquide inflammable. Son exposition risque de provoquer l’irritation des yeux, de la peau et de l’appareil respiratoire, la dépression du système nerveux central et la cecité. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés.
2	Sécher la cellule en utilisant de l’air pressurisé propre.

Vérification de la barre cathodique

S’assurer que la barre cathodique est sèche au moment de replacer la barrette usagée sur l’instrument. Une barre mouillée risque de provoquer la formation d’étincelles.

⚠ AVERTISSEMENT DANGER D’INCENDIE/ELECTROCUTION. Ne pas laisser de liquide dans la barre cathodique. Cela pose un risque d’électrocution voire d’incendie si la barre n’est pas correctement entretenue.



Installation et retrait de la barrette capillaire

Quand faut-il changer la barrette capillaire

Remplacer la barrette capillaire après environ 100 passages.

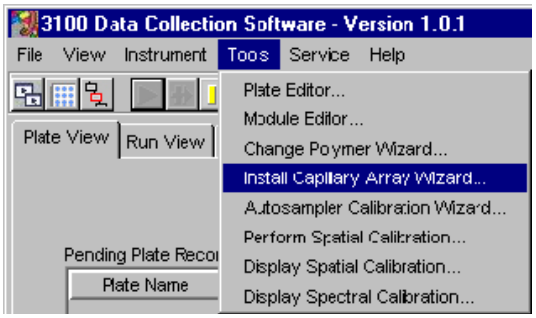
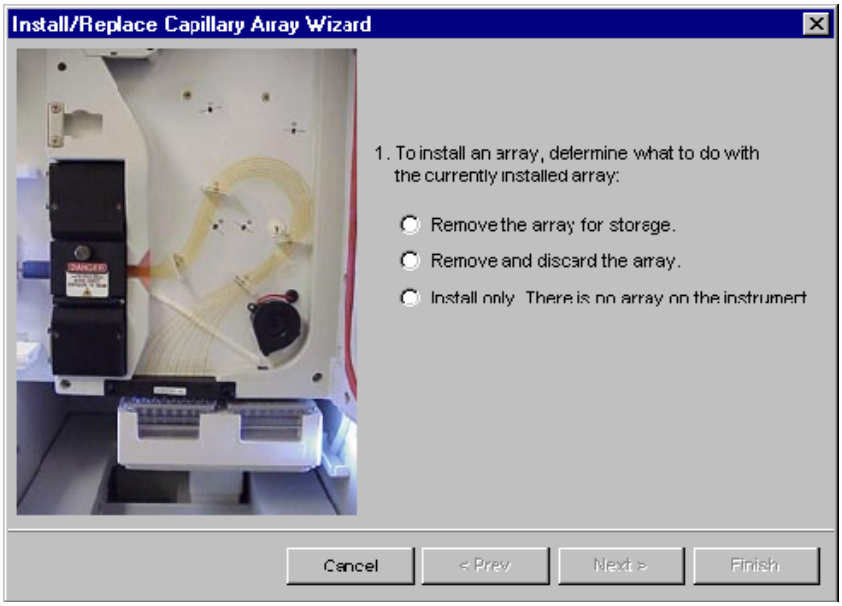
Les problèmes suivants suggèrent qu'une nouvelle barrette capillaire est nécessaire :

- mauvaise résolution et/ou intensité de signal diminuée

Installation ou retrait de la barrette capillaire à l'aide de l'assistant

⚠ ATTENTION **DANGER CHIMIQUE**. Le polymère **POP** risque de provoquer l'irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés. Réservé à la recherche et au développement.

Pour remplacer une barrette capillaire ou l'installer sur un instrument :

Etape	Action
1	Refermer le four et les portes de l'instrument, et appuyer sur le bouton de plateau.
2	A partir du menu **Tools** (Outils), sélectionner **Install Capillary Array Wizard** (Assistant d'installation de barrette capillaire).  L'assistant d'installation s'ouvre. 
3	Respecter les directives de l'assistant pour remplacer ou installer la barrette.
4	Passer à la section « Remplacement du tampon » ci-dessous.

Remplacement du tampon

Remplacer le tampon après avoir installé une nouvelle barrette capillaire. Remplacer ensuite les réservoirs d'eau et de tampon après 12 heures de fonctionnement.

Pour plus de détails, se reporter à la section « Vérification et remplissage des liquides » à la page 2-9.

Stockage d'une barrette capillaire

Quand faut-il la ranger hors de l'instrument

Ranger la barrette capillaire hors de l'instrument quand elle reste inutilisée pendant plus d'une semaine.

Avant de stocker la barrette capillaire pendant une période prolongée, nous recommandons de remplir les capillaires de polymère frais.

Stockage de la barrette capillaire hors de l'instrument

IMPORTANT Ne pas laisser les capillaires de la barrette sécher s'ils doivent être réutilisés. Stocker la barrette capillaire en plaçant les deux extrémités dans le tampon 1X.

Pour stocker la barrette capillaire hors de l'instrument :

Etape	Action
1	Remplir la barrette capillaire de polymère frais en utilisant l'assistant de changement du polymère.
2	Enlever la protection de la seringue.
3	Enlever les deux seringues du bloc polymère supérieur et mettre au rebut le polymère restant de la façon appropriée.
4	Laver les seringues.
5	Enlever la barrette capillaire de l'instrument en utilisant l'assistant d'installation et de changement de la barrette capillaire. Pour plus de détails, se reporter à la section « Installation et retrait de la barrette capillaire » à la page 5-12.
6	Replacer le couvercle sur la cellule de détection.
7	Remplir un réservoir de tampon 1X et recouvrir à l'aide d'une bandede bouchons. Introduire les pointes capillaires dans le tampon.
8	Remplir un tube conique de 1,5 ml d'eau désionisée et insérer le côté détection de la barrette capillaire.
9	Envelopper le tube d'une pellicule pour laboratoire (Parafilm par exemple) pour empêcher l'évaporation.
10	Ranger la barrette capillaire à la verticale.
11	Vérifier le niveau du tampon 1X dans le réservoir et le tube chaque semaine.

Arrêt de l’instrument

Quand faut-il effectuer chaque procédure d’arrêt

Effectuer la procédure d’arrêt appropriée comme suit :

Si l’instrument est laissé sans surveillance...	Effectuer une procédure d’arrêt...
pendant une semaine au plus avec un réservoir tampon plein	à court terme **IMPORTANT** Il est déterminant pour le succès de la procédure d’arrêt ácourt terme que la pointe de la barrette capillaire reste dans le tampon. Cela empêche le polymère de sécher dans les capillaires.
pendant plus d’une semaine	à long terme

Exécution d’un arrêt à court terme

Pour effectuer un arrêt à court terme :

Etape	Action
1	Remplir les capillaires de polymère frais en utilisant des commandes de contrôle manuelles.
2	Appuyer sur le bouton de plateau pour amener le passeur d'échantillons vers l’avant.
3	Remplir le réservoir de tampon 1X, juste en dessous du sommet du réservoir.
4	Fixer une bande de bouchons sur le réservoir et le placer sur la position 1 du passeur d'échantillons.
5	Appuyer sur le bouton de plateau avec les portes d’instrument ouvertes.
6	Refermer les portes de l’instrument. Le passeur d'échantillons se met en position 1, laissant les pointes capillaires dans le réservoir tampon.
7	Arrêter l’ordinateur et mettre l’instrument hors tension.

Exécution d’un arrêt à long terme

Pour effectuer un arrêt à long terme :

Etape	Action
1	Observer la procédure page 5-13 pour enlever et ranger la barrette capillaire hors de l’instrument.
2	Enlever de l’instrument : ♦ Les seringues du bloc polymère supérieur. Pour plus de détails, lire la page 5-7. ♦ Bloc polymère supérieur. Pour plus de détails, lire la page 5-8. ♦ Bloc polymère inférieur. Pour plus de détails, lire la page 5-8.
3	Enlever du passeur d'échantillons : ♦ les ensembles plaques ♦ les réservoirs
4	Essuyer le passeur d'échantillons et les plateaux perforés avec un tissu non-pelucheux imbibé d’eau.
5	Refermer les portes de l’instrument.
6	Arrêter l’ordinateur et mettre l’instrument hors tension.
7	Laver les seringues, les blocs polymère et les réservoirs à l’eau chaude. Rincer à l’eau désionisée.

Index

A

adresse Internet
  Documents sur demande 1-6
adresse Web
  Applied Biosystems 1-6
  Documents sur demande 1-6
affichage
  données brutes (en couleur) dans le logiciel de collecte des données 3-2 à 3-3
  fichiers échantillon dans le logiciel d'analyse de séquençage 3-6 à 3-10
ajout de fichiers au Gestionnaire d'échantillons 3-6 à 3-7
analyse des données, logiciel d'analyse du séquençage 3-11 à 3-13
analyse des données. *Voir* analyse des données
assistance clientèle. *Voir* support technique 1-3
autoextraction, échec 2-24

B

barrette capillaire, installation, retrait, stockage 5-11 à 5-13
bloc polymère supérieur, élimination des bulles d'air 5-4
blocs polymère
  élimination des bulles d'air 5-4
  nettoyage 5-9
  retirés de l'instrument 5-8
Boîte de dialogue Select the run to display 3-2
Bouton d'arrêt 2-24
Bouton de passage à la série suivante 2-24
Bouton de pause 2-24
bulles d'air, éliminées du bloc polymère supérieur 5-4

C

calibration spatiale, discussion 4-2 à 4-5
calibration spectrale, discussion 4-6 à 4-13
capillaire jaune dans la fenêtre Array View 4-11
cellule de détection, nettoyage 5-11
Champ de projet BioLIMS (dans l'enregistrement de plaque) 2-16
Commande d'affichage des résultats de la série 3-2
Commande de remplissage de formulaire 2-16
courrier électronique, adresse du support technique 1-3

D

Documents sur demande 1-6
données
  affichage des données analysées 3-5
  affichage des données brutes 3-2
  analyse ou réanalyse 3-11
  extraction 2-24
données brutes (en couleur), affichées dans le logiciel de collecte des données 3-2 à 3-3
Données EPT, affichées dans l'analyse de séquençage 3-9

E

enregistrement de plaque
  création 2-13 à 2-18
  liaison d'une plaque 2-19
  pour la calibration spectrale 4-9
ensemble plaque, placé sur le passeur d'échantillons 2-12
espace de base de données, vérification 5-6
espace disponible sur le disque dur, vérification 5-5

F

Factura
  affichage des fonctions 3-9
  analyse, application 3-12
Fenêtre du Gestionnaire d'échantillons 3-6
  fichiers ajoutés 3-6 à 3-7
fenêtres d'échantillonnage (Analyse du séquençage), description 3-9
Fiche signalétique, comment commander 1-9
fichiers échantillon
  affichage 3-6
  affichage dans le logiciel d'analyse du séquençage 3-10
  impression 3-10
  longueur maximale 2-14

H

Heures 1-3

I

impression des fichiers échantillon 3-10
instrument
  arrêt 5-14
  fonctionnement 2-23

J

jeu de fluorophores, sélection 2-15

L

liaison d'une plaque 2-19
Logiciel d'analyse du séquençage
  affichage des données 3-5
  chemin du répertoire de SeqA.exe 2-27, 3-6
  description des fenêtres d'échantillonnage 3-9
  manuel d'utilisation 1-2
logiciel de collecte des données, démarrage 2-3

M

maintenance, discussion 5-2 à 5-14
manuels, documentation du 3100 1-2
mise en garde contre les risques d'électrocution 1-12
mise en garde sur les lasers 1-12
module d'analyse
    affichage et modification 2-27
    sélection 2-17
module d'électrophorèse
    affichage, modification et création 2-25
    sélection 2-16

N

numéros de référence
    manuels 1-2
    pièces et fournitures.*Voir le manuel d'utilisation*

O

Onglet de fenêtre de plaque 2-13, 2-19
OrbixWeb, démarrage 2-3
ordinateur
    vérification de l'espace de la base de données 5-6
    vérification de l'espace disponible sur le disque dur 5-5

P

Page Array View (Fenêtre de barrette) 3-3
passeur d'échantillons
    positionnement des plaques 2-12
    positions de réservoir 2-11
polymère, ajout ou remplacement 2-9, 5-10
préférences 2-5
préférences logicielles 2-5
préparation d'échantillon
    Guide de chimie du séquençage 1-2

R

réservoirs
    positions sur le passeur d'échantillons 2-11
    remplissage 2-9 à 2-11
réservoirs d'eau et de tampon cathodique, remplissage 2-9 à 2-11

S

sécurité
    discussion 1-8 à 1-12
    manuel 1-2
sécurité chimique 1-8
sécurité des déchets 1-8
série
    démarrage 2-23
    passage à une série suivante, pause, arrêt 2-24
    surveillance 2-23
seringes, discussion 5-7
standards de matrice, préparation 4-6
support technique 1-3 à 1-7
    adresse email 1-3
    adresse Internet 1-6
    agences de vente régionales 1-4 à 1-5
    téléphone/fax (Amérique du Nord) 1-3
    téléphone/fax (en dehors de l'Amérique du Nord) 1-4

T

tampon 1X, préparation pour une seule analyse 2-10

Siège social
850 Lincoln Centre Drive
Foster City, CA 94404 Etats-Unis
Téléphone : +1 650.638.5800
Numéro gratuit (Etats-Unis) : +1 800.345.5224
Télécopie : +1 650.638.5884

Agences commerciales internationales
Le vaste réseau de service et de distribution Applied Biosystems, prèsent dans 150 pays sur les six continents, met à la disposition de ses clients les meilleurs spécialistes des applications et du support technique. Pour obtenir la liste des agences internationales, prière d'appeler notre agence locale ou consulter notre site Web à www.appliedbiosystems.com.

www.appliedbiosystems.com

Applied Biosystems | HITACHI

Applera Corporation s'engage à fournir aux spécialistes des sciences de la vie du monde entier les informations et les technologies les plus innovantes. Applera Corporation est constituée des divisions Applied Biosystems et Celera Genomics.

Imprimé aux Etats-Unis, 02/2001

an Applera business